SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN MIT DEM ELISA ZUM NACHWEIS ZIRKULIERENDER ANTIKÖRPER UND ANTIGENE BEI DER TRYPANOSOMA EVANSI-INFEKTION DES KANINCHENS UND DER ZIEGE VOR UND NACH DER CHEMOTHERAPEUTISCHEN BEHANDLUNG

Dietlinde Heinzmann

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0072

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin und
Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch
Angefertigt unter Leitung von Prof.Dr.H.K.Dennig

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN MIT DEM ELISA ZUM NACHWEIS ZIRKULIERENDER ANTIKÖRPER UND ANTIGENE BEI DER TRYPANOSOMA EVANSI-INFEKTION DES KANINCHENS UND DER ZIEGE VOR UND NACH DER CHEMOTHERAPEUTISCHEN BEHANDLUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Dietlinde Heinzmann
aus
München

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J.von Sandersleben
Referent: Prof. Dr. H.K. Dennig
Korreferent: Prof. Dr. M.Rüsse

Tag der Promotion: 24. Juli 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Die Serodiagnostik der Trypanosoma evansi-Infektion und der Nachweis zirkulierender Trypanosomenantigene (anhand der Literatur)	2
3.	Eigene Untersuchungen	10
3.1.	Material und Methoden	10
3.2.	Ergebnisse	21
3.2.1.	Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Bali, bei Ziegen	21
3.2.1.1.	Parasitämieverlauf	21
3.2.1.2.	Hämatologische Untersuchungen	21
3.2.1.3.	Chemotherapie	22
3.2.1.4.	Serologische Untersuchungen mit dem ELISA	22
3.2.2.	Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Bali, bei Kaninchen	26
3.2.2.1.	Parasitämieverlauf	26
3.2.2.2.	Hämatologische Untersuchungen	26
3.2.2.3.	Chemotherapie	28
3.2.2.4.	Serologische Untersuchungen mit dem ELISA	29
3.2.3.	Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Kairo, bei Ziegen	34
3.2.3.1.	Parasitämieverlauf	34
3.2.3.2.	Hämatologische Untersuchungen	34
3.2.3.3.	Chemotherapie	35
3.2.3.4.	Serologische Untersuchungen mit dem ELISA	35
4.	Besprechung der Ergebnisse	38
5.	Zusammenfassung und Summary	46
6.	Literaturverzeichnis	49
	Lebenslauf	

1. Einleitung

Die Trypanosoma evansi-Infektion (Surra) ist eine in zahlreichen tropischen und subtropischen Gebieten verbreitete Seuche. Bei Equiden, Kamelen, Rindern und Wasserbüffeln kann sie zu hohen wirtschaftlichen Verlusten führen. Die Diagnose stützt sich in akuten Fällen auf den direkten Erregernachweis im Blut. In der latenten Phase der Infektion wird der Nachweis indirekt mit Hilfe des biologischen Tierversuches und der Serodiagnostik geführt. Es fehlt bislang eine Möglichkeit, Tiere unmittelbar nach Erregerübertragung vor Ausbildung spezifischer Antikörper als Träger von Trypanosomen zu erkennen bzw. geheilte Tiere direkt nach Chemotherapie von infizierten Tieren zu unterscheiden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei experimentell mit Trypanosoma evansi infizierten Zwergziegen und Kaninchen mit Hilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa) Antikörper-Titerverlaufskurven zu erstellen und zirkulierende Antigene, d.h. Parasiten-Exometaboliten mit antigenem Charakter, nachzuweisen. Durch den Nachweis zirkulierender Antigene entweder vor Eintritt der Antikörperbildung oder nach einer nicht zur parasitären Heilung führenden Chemotherapie sollten T. evansi-Träger von nichtinfizierten oder mit Erfolg chemotherapierten Tieren abgegrenzt werden. Neben der Serologie wurden auch Behandlungsversuche zur Erzielung einer parasitären Heilung sowie Untersuchungen zum Verlauf der Parasitämie und zur Veränderung der Blutparameter vor und nach der Behandlung durchgeführt.

2. Die Serodiagnostik der Trypanosoma evansi-Infektion und der Nachweis zirkulierender Trypanosomenantigene (anhand der Literatur)

Wie bei den meisten Blutparasitosen stellt sich auch bei der T. evansi-Infektion die Schwierigkeit, die latente Form der Krankheit zu diagnostizieren, da sich in diesem Stadium die Parasiten häufig weder mikroskopisch noch im biologischen Test darstellen lassen. Aufgrund dieser Tatsache wurde eine Reihe von serologischen Techniken, nämlich die chemoserologischen und die immunoserologischen Testverfahren, entwickelt.

Das Charakteristische der chemoserologischen Testmethoden ist das Ausflocken des bei der Trypanosomiasis erhöhten Serumeuglobulin-Gehaltes bei Zugabe bestimmter chemischer Reagenzien. Bei den immunoserologischen Testverfahren werden dagegen spezifisch gegen den Erreger Trypanosoma evansi gerichtete Antikörper nachgewiesen.

Zu den chemoserologischen Tests sind der Formol-Gel-Test, der Mercuric-Chloride-Test, der Stilbamidin-Test und der Jone's Nitric-Acid-Test zu rechnen. Vertreter der immunoserologischen Tests sind der Agglutinations-, der Präzipitations- und der Hämagglutinationstest, die Komplementbindungsreaktion, der indirekte Fluoreszenzantikörpertest und der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

Chemoserologische Tests

Der Formol-Gel-Test (F.-G.-T.) oder Serum-Aldehyd-Test wurde erstmals unabhängig voneinander von PLANTUREUX (1923) und von SPACKMANN (1923) bei der akuten und chronischen Surra von Kamelen verwendet. Dabei war es ihnen möglich, mit dem Test alle infizierten Tiere zu erfassen. PLANTUREUX (1923) wies die ersten positiven Reaktionen in Form von Ausflockungen 5 Wochen post infectionem (p.i.) nach. Nach Chemotherapie fehlten diese Ausflockungen. Im Gegensatz dazu erhielten KNOWLES (1924), BENNETT (1933), PEGRAM, SCOTT (1976) und LUCKINS et al. (1979) bei ihren Arbeiten mit dieser Methode weniger klare Ergebnisse. Die Verfasser zeigten, daß 7 - 40% der mikroskopisch positiven Kamele nicht reagierten.

Beim Rind (HORNBY, 1923; RAY, BHASKARAN, 1953; DHILLON, 1953; STEPHEN, 1966), Schaf (BOUVIER, 1936), Ziege (BOUVIER, 1936; KUPPUSWAMY, 1941; SAMMADAR, GILL, 1962) und Hund (BOUVIER, 1936) bewährte sich der F.-G.-T. nicht.

Der Mercuric-Chloride-Test (M.-C.-T.) wurde von BENNETT und KENNY (1928) bei Kamelen eingeführt. Erste Ausflockungen verzeichnete BENNETT (1929) 1 - 2 Wochen p.i.. Ein Verschwinden der Reaktion innerhalb von 1 - 3 Monaten nach Therapie wurde von BENNETT (1929) und LEACH (1961) beobachtet. BENNETT (1929) und LUCKINS (1979) wiesen jedoch nach, daß der Test dem F.-G.-T. nicht wesentlich überlegen war, da nicht alle infizierten Träger erfaßt werden konnten. Auch RECEVEUR (1938) und PEGRAM und SCOTT (1976) erhielten mit dieser Methode unklare, CHAND und SINGH (1970) sogar falsch positive Ergebnisse bei Kamelen. Außerdem zeigte BENNETT (1929) auf, daß der Test auch bei Erkrankungen mit anderen Erregern positiv reagierte.
Auch bei anderen Tierarten bewährte sich der M.-C.-T. nicht. Ziegenseren reagierten stets positiv (KUPPUSWAMY, 1941; SAMADDAR, GILL, 1962); bei Rindern führte er zu falsch positiven Reaktionen (KUPPUSWAMY, 1941; RAY, BHASKARAN, 1953; DHILLON, 1953).

Im Gegensatz hierzu wurde bei Rindern der Stilbamidin-Test (S.-T.) von RAY (1950), RAY, BHASKARAN (1953) und DHILLON (1953) mit Erfolg angewandt. RAY (1950) erhielt bereits 2 Wochen p.i. erste Reaktionen. Bei Equiden (RAY, 1950), Büffeln (RAY, 1950), Ziegen (SAMADDAR, GILL, 1962) und Kaninchen (SAMADDAR, 1966) erwies sich jedoch der Test als ungeeignet.

Auch der von SAMADDAR und GILL (1962) bei Ziegen angewandte Jone's Nitric-Acid-Test ergab unklare Ergebnisse.

Immunoserologische Tests

Der Agglutinationstest (A.-T.) wurde von GILL (1965a, 1970) zu Untersuchungen bei Kaninchen eingesetzt. Erste Antikörper-Titer traten schon 4 Tage p.i. auf. Nach Behandlung am 10. Tag der Infektion reagierten die Seren 20 - 90 Tage später negativ. Darüber-

hinaus war es GILL (1970) möglich, mit dieser Methode auch eine Veränderung der Antigenstruktur der verwendeten Trypanosomenstämme im Verlauf der Infektion nachzuweisen.
Bei Kamelen, Pferden und Affen erwies sich der Agglutinationstest als unzuverlässig, da 50 bis 75 % der infizierten Tiere nicht erfaßt werden konnten (RAFALOVICH, 1949).

Auch der Präzipitationstest (P.-T.) oder die Agargel-Diffusion wurde zuerst bei Kaninchen mit Erfolg angewandt (GILL, 1965a, 1970; BANSAL, PATHAK, 1971). Erste Antikörper-Titer waren zwischen dem 7. und 20. Tag p.i. nachweisbar. Wie im A.-T. wies GILL (1970) ebenfalls mit dem P.-T. ein Verschwinden der Antikörper nach 20 - 90 Tagen post therapiam (p.th.) nach. Im Gegensatz zu den Versuchen mit dem A.-T. war es GILL (1965a)mit dem P.-T. nicht möglich, eine Antigen-Varianz der verwendeten Stämme nachzuweisen, da er lediglich spezies-spezifische Antigene feststellte. BIGALKE (1966) überprüfte mit dem P.-T. das immunologische Verhalten von Trypanosoma evansi, T. equinum, T. equiperdum und T. rhodesiense in Kaninchen. Er stellte dabei Kreuzreaktionen der verschiedenen Spezies fest.
Unklare Ergebnisse erbrachte der Test auch bei Untersuchungen von Seren von Pferden (BOEHRINGER, 1965) und Rindern und Büffeln (VERMA, GAUTAM, 1977).

Die Komplementbindungsreaktion (KBR) wurde bevorzugt zu epidemiologischen Untersuchungen herangezogen. Mit ihr wurden Seren vom Kamel (SCHOENING, 1924; SABANSHIEV, 1973), Pferd (SCHOENING, 1924; REYNOLDS et al., 1930; RANDALL, SCHWARTZ, 1936; POURSINES, PIGOURY, 1943), Rind (SCHOENING, 1924; KELSER, 1927; TOPACIO, ACEVEDO, 1938; RAY, 1948, 1949, 1950; RAY, BHASKARAN, 1953), Schaf (SCHOENING, 1924), Hund (SCHOENING, 1924) und Kaninchen (SCHOENING, 1924; GILL, 1965a, 1970) untersucht. Wechselnde Resultate im Auftreten der ersten Antikörper-Titer wurden bei der gleichen Tierart verzeichnet. REYNOLDS et al. (1930) erhielten beim Pferd und SCHOENING (1924) beim Pferd und Rind einen ersten Anstieg der Antikörper am 7. - 9. Tag p.i., GILL (1970) beim Kaninchen zwischen dem 7. und 40. Tag p.i. und POURSINES, PIGOURY (1943) beim Pferd und RAY (1950) beim Rind erst nach 3 - 4 Wochen. Bei verschiedenen Tierarten wurde eine anti-

komplementäre, den Test beeinträchtigende Wirkung der Tierseren beobachtet (SCHOENING, 1924; GILL, 1970; SABANSHIEV, 1973).

Der Indirekte Hämagglutinationstest (IHA) wurde von GILL (1964) für die Surradiagnostik entwickelt. GILL (1965a, 1970) wies regelmäßig den Beginn eines Titeranstieges am 5. - 7. Tag p.i. bei Kaninchen, VERMA, GAUTAM (1977) bei Büffeln und Rindern nach. Allerdings war es GILL (1965a) im Gegensatz zu seinen Versuchen mit dem A.-T. (GILL, 1970) nicht möglich, eine Antigenvarianz festzustellen, sodaß der IHA und der P.-T. in dieser Hinsicht sich ähnlich verhielten. Die Titerverlaufskurven nach der Behandlung (GILL, 1970) entsprachen den Ergebnissen der beiden vorigen Testmethoden. Bei Kamelen beobachtete JATKAR (1971) eine falsch positive Reaktion bei einem mit Streptokokken infizierten Tier. Bei Ziegen reagierte der Test außerordentlich spezifisch (SHIEN, 1974). Beide Autoren erhielten präinfektionelle Titer von 1 : 20.

Der Indirekte Fluoreszenzantikörpertest (IFAT) ist die am häufigsten bei der Trypanosoma evansi-Infektion angewandte immunoserologische Methode. GILL (1965a) und LUCKINS et al. (1978) verwendeten den IFAT bei Kaninchen, SABANSHIEV (1972, 1973), EINWALD (1976) und SCHÄRFL (1977) bei Meerschweinchen. SABANSHIEV (1972, 1973) und LUCKINS et al. (1979) untersuchten im IFAT Kamele, VERMA, GAUTAM (1977) Büffel und Rinder, MALIK, MAHMOUD (1978) Ziegen und SABANSHIEV (1972, 1973) Pferde und Hunde. Dabei lag die Zeit des ersten Antikörpernachweises zwischen 6 und 20 Tagen nach der Infektion. Nach Behandlungsversuchen war es LUCKINS et al. (1979) bei Kamelen und LUCKINS et al. (1978) bei Kaninchen möglich, noch 60 bzw. 120 Tage p.th. Antikörper nachzuweisen.
PERIE (1975, 1976) modifizierte den IFAT und entwickelte den Immunokomplementfluoreszenztest. Bei Boviden, Hund und Affe beobachtete er Kreuzreaktionen zwischen Trypanosoma evansi und Trypanosoma brucei. Bei frischen Infektionen versagte der Test im Gegensatz zum IFAT.

Der Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA) wurde auf seine Zuverlässigkeit von SABANSHIEV (1972, 1973) an zahlreichen Tierspezies mit Erfolg geprüft. LUCKINS et al. untersuchten im ELISA Kaninchen (1978) und Kamele (1979), und SCHÖNEFELD (1979) Pferde. Erste Anti-

körper-Titer traten zwischen dem 10. und 15.Tag der Infektion auf. Nach Therapie lagen die Titer bei Kaninchen (LUCKINS et al., 1978) und Kamelen (LUCKINS et al., 1979) 120 bzw. 60 Tage p.th. immer noch höher als vor der Infektion. Jedoch verzeichneten LUCKINS et al. (1978) bei Kaninchen bis zum 30. posttherapeutischen Tag einen Titerabfall um annähernd 50%. SCHÖNEFELD (1979) erhielt bei Pferden präinfektionelle Titer von 1 : 20.

Nachweis zirkulierender Trypanosomenantigene

WEITZ (1960a) entdeckte als erster bei einer Trypanosomen-Infektion freizirkulierendes, nicht an Parasiten gebundenes Antigen im Serum, welches er Exoantigen nannte. Bei mit Trypanosoma (T.) brucei infizierten Ratten stellte er eine Präzipitation zwischen exoantigenhaltigem Serum, d.h. infiziertem Rattenserum (IRS), und dessen Antiserum fest. Eine durch Antiserum hervorgerufene Agglutination lebender Trypanosomen wurde durch IRS gehemmt, durch wiederholtes Verimpfen von IRS ein Schutz gegen lebende Trypanosomen erreicht und bei gleichzeitiger Injektion von lebenden Trypanosomen und IRS die Lebenszeit der Tiere verkürzt. Das Exoantigen besaß somit nach den Untersuchungen von WEITZ (1960a) präzipitogene, protektive und pathogenitätssteigernde Eigenschaften.

Weitere Untersuchungen auf Exoantigene bei Trypanosomen-Infektionen wurden fast ausschließlich bei Ratten und Mäusen anhand von Präzipitationsmethoden und Immunisierungsversuchen vorgenommen, wobei ein Exoantigennachweis nur in der akuten Phase der Infektion gelang.

Mit Immunopräzipitintechniken, wie Immunodiffusion, Immunoelektrophorese und Gegenstromelektrophorese, wurden Exoantigene bei Infektion mit T. brucei (WEITZ, 1960b; GRAY 1961; MILLER, 1965; LANHAM, 1966; LANHAM, TAYLOR, 1972; ALLSOPP et al., 1971; DIFFLEY et al., 1980), T. cruzi (SIQUEIRA et al., 1966; DZBENSKI, 1975; ARAUJO,1976; ARAUJO et al., 1978a,b; GOTTLIEB, 1977), T. vivax (GRAY, 1961; CLARKSON, AWAN, 1969), T. lewisi (BAWDEN, 1970; D'ALESANDRO, 1972; DWYER, 1977; LONG, DUSANIC, 1978), T. musculi (DUSANIC, 1978), T. gambiense (GRAY, 1961; TAKAYNAGI, 1970; TAKAYNAGI et al., 1973), T. rhodesiense (SEED, 1963; SEED, WEINMANN, 1963) und T. evansi (GILL, 1965b; PATHAK, BANSAL, 1969) erfaßt.

Anhand von Immunisierungsversuchen an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen wurden die immunogenen Eigenschaften der Exoantigene von T. brucei (WEITZ, 1960b; WEITZ, LEE-JONES, 1961; MILLER, 1965; LANHAM 1966; LANHAM, TAYLOR, 1972), T. cruzi (JOHNSON et al., 1963; ARAUJO et al., 1978a,b), T. vivax (WEITZ, LEE-JONES, 1961; CLARKSON, AWAN, 1969), T. lewisi (THILLET, CHANDLER, 1957; BAWDEN, 1970), T. congolense (JOHNSON et al., 1963), T. gambiense (DODIN, FROMETIN, 1962; DODIN et al., 1962), T. rhodesiense (SEED, 1963; SEED, WEINMANN, 1963), T. equiperdum (DODIN et al., 1962) und T. evansi (GILL, 1965b) aufgezeigt.

Eine Hemmung der Agglutination von lebenden Trypanosomen im Antiserum durch Exoantigene bzw. eine Agglutination von lebenden Trypanosomen unter Zugabe von Anti-IRS beobachtete WEITZ (1960 b). Agglutinogene Eigenschaften der Exoantigene stellten bei T. vivax WEITZ, LEE-JONES (1961), bei T. brucei MILLER (1965) und bei T. lewisi BAWDEN (1970) fest. Bei Durchführung eines Agglutinationstestes mit Gesamtblut, d.h. mit Trypanosomen und Exoantigen, entwickelten sich stärkere Reaktionen als bei alleiniger Verwendung von T. brucei (CUNNINGHAM, VICKERMANN, 1962).

SEED (1963) beobachtete bei Infektion mit T. rhodesiense zwei in ihren Eigenschaften verschiedene Exoantigene, nämlich ein Immunogen, welches nicht präzipitierte, und ein Präzipitogen, welches keine Schutzwirkung entwickelte.

Erstmalig wurden Exoantigene im Präzipitationstest am 2. - 3. Tag bei Infektion mit T. brucei bzw. T. vivax (GRAY, 1961) und am 7. Tag p.i. bei Infektion mit T. cruzi (ARAUJO et al., 1978a,b) nachgewiesen. Mit der Komplementbindungsreaktion gelang bei T. cruzi ein erster Nachweis am 4.Tag p.i. (SIQUEIRA et al., 1979). Einen Anstieg der Antigenkonzentration bis kurz vor dem Tod verzeichnete WEITZ (1960b) bei Infektion mit T. cruzi.

Von einer engen Abhängigkeit der Antigenkonzentration von der Parasitenanzahl wird von zahlreichen Autoren berichtet. ARAUJO et al. (1978a) beschreiben eine notwendige Anzahl von 1×10^5 - 3×10^5 Parasiten/ml Blut für den Exoantigennachweis bei einer T. cruzi-Infektion. GOTTLIEB (1977) gelang beim gleichen Erreger erst ein Exo-

antigennachweis ab 4 x 10^7 Parasiten/ml Blut und bei T. rhodesiense und T. gambiense ab 1 x 10^9 Parasiten/ml Blut. Eine lineare Funktion von Parasitenanzahl und Antigenkonzentration ermittelten DIFFLEY et al. (1980) bei T. brucei, mit einer Möglichkeit eines Exoantigennachweises ab 4 x 10^8 Parasiten/ml Blut.

ALLSOPP et al. (1971) erhielten erst Reaktionen vonseiten der im Serum gelösten Exoantigene nach 15-minütiger Lagerung eines T. bruceihaltigen Blutes bei Raumtemperatur und anschließender Abzentrifugation; DZBENSKI (1975) nach 4-stündiger Lagerung von Blut, welches T. cruzi enthielt. Im Gegensatz dazu konnte D'ALESANDRO (1972) nach sofortiger Zentrifugation Exoantigene von T. lewisi nachweisen. Eine Beziehung zwischen einer pH-Erniedrigung des Blutes und dem Auftreten von Exoantigenen bei T. brucei beobachteten ALLSOPP et al. (1971), welche DIFFLEY et al. (1980) bei Untersuchungen mit der gleichen Trypanosomenspezies verneinten.

In chronischen Fällen von Trypanosomiasis konnten gegen Exoantigene gerichtete Antikörper entdeckt werden. Mit dem Präzipitationstest wurden derartige Antikörper bei Infektion mit T. brucei beim Kaninchen (WEITZ, 1960b), T. vivax beim Rind (GRAY, 1961) und T. cruzi beim Menschen (ARAUJO, 1976) gefunden. In der Komplementbindungsreaktion wiesen aus T. cruzi-Kulturen gewonnene Exoantigene Reaktionen mit Seren von chronisch infizierten Menschen auf (TARRANT et al., 1965; SIQUEIRA et al., 1966). Seren von chronisch mit T. cruzi infizierten Mäusen reagierten in der Komplementbindungsreaktion ebenfalls mit dem Exoantigen.

Über die Spezifität der Reaktion der Exoantigene bestehen von einander abweichende Angaben. GRAY (1961) fand bei Untersuchungen mit T. vivax, T. gambiense und T. brucei zwei den drei Trypanosomenspezies gemeinsame Exoantigene in der Präzipitationsreaktion. Im Gegensatz hierzu beobachtete TAKAYNAGI (1970) im IFAT speziesspezifische Unterschiede der Exoantigene von T. gambiense und T. evansi. SEED und WEINMANN (1963) verzeichneten in der Präzipitationsreaktion bei T. rhodesiense und TAKAYNAGI (1970) bei T. gambiense stammspezifische, GOTTLIEB (1977) bei T. cruzi keine stammspezifischen Reaktionen. CLARKSON, AWAN (1969) stellten im Präzipitationstest ein

variantenspezifisches Verhalten bei T. vivax fest und DZBENSKI (1975) bei T. brucei. MILLER (1965) wies eine Antigenvariation als spezifische Veränderung der Exoantigene im Agglutinationstest, in der Präzipitationsreaktion und im Immunisierungsversuch bei T. brucei nach.

Einen stammspezifischen Schutz mit Exoantigenen erhielten SEED und WEINMANN (1963) gegen T. rhodesiense und WEITZ und LEE-JONES (1961) gegen T. vivax. Nicht absolut war der Schutz nach Angaben von DODIN, FROMETIN (1962) mit einer Dauer von 2 Monaten bei T. gambiense bzw. mit einer nur verminderten Mortalität bei T. cruzi nach ARAUJO et al. (1978b). LANHAM und TAYLOR (1972) verzeichneten eine schützende Wirkung durch T. brucei-Exoantigene erst nachdem das Blut 6 Stunden bei Raumtemperatur gelagert worden war. JOHNSON et al. (1963) erreichten bei Verabreichung von T. cruzi-Exoantigenen einen besseren Schutz als durch Immunisierung mit Trypanosomen.

Ein zur Massenpräparation von Exoantigenen geeignetes Tier entdeckten DEROUIN et al. (1978) in der Cricetomys-gambianus-Maus. Sie eluierten das T. gambiense-Exoantigen an einer Gelsäule und konzentrierten es durch Ultrafiltration und Dialyse.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

Versuchstiere

Zwergziegen: Es wurden 10 Zwergziegen (8 ♀, 2 ♂) im Alter von 6 - 12 Monaten für die Versuche verwendet. Bei Versuchsbeginn betrug das Gewicht 20 - 30 kg.
Kaninchen (institutseigene Zucht): Bei Versuchsbeginn waren die 11 Kaninchen (6 ♀, 5 ♂) 8 Monate alt und hatten ein Gewicht von 2 - 3 kg.
NMRI-Mäuse (institutseigene Zucht): Es wurden ausschließlich weibliche Tiere im Alter von 6 - 8 Wochen und 30 - 40 g Körpergewicht verwendet.
Haltung: Die Ziegen lebten in einem halboffenen Laufstall und wurden mit Heu und Wasser ad libitum ernährt. Die Kaninchen wurden in Metalleinzelkäfigen, die Mäuse in Makrolonkäfigen bei 22°C Raumtemperatur und 40 - 50% Luftfeuchtigkeit gehalten. Als Futter erhielten sie "Standard-Diät für Kaninchen" bzw. "Standard-Diät für Mäuse" der Fa. Altrogge und Wasser ad libitum.

Parasitenstämme

Trypanosoma evansi, Stamm Bali (B.)

Der Trypanosomenstamm wurde 1975 auf Bali (Indonesien) aus einem Rind isoliert und wird seitdem auf verschiedenen Labortieren, vor allem NMRI-Mäusen, passagiert. Für Mäuse und Ratten ist der Stamm hochpathogen; die Überlebenszeit beträgt durchschnittlich 5 - 8 Tage. Bei Kaninchen erstreckt sich der Infektionsverlauf auf ca. 4 - 5 Wochen, es besteht wie bei Mäusen und Ratten eine Mortalität von 100%. Bei Ziegen jedoch verläuft die Infektion nur latent.

Trypanosoma evansi, Stamm Kairo (K.)

Der Stamm wurde 1978 in Ägypten aus einem Kamel isoliert und wird seitdem auf NMRI-Mäusen passagiert. Die nach der Isolierung für Mäuse wenig pathogenen Trypanosomen entwickelten im Verlauf der Passagen eine hohe Pathogenität für diese Tierart mit einer Überlebenszeit von 6 - 8 Tagen.

Inokulum

Die Ziegen wurden mit je 1 Million Trypanosomen pro Tier, die Kaninchen mit 1 Trypanosom/gKGW infiziert. Bei 9 Kaninchen und 4 Ziegen fand T. evansi (B.), bei 4 weiteren Ziegen T. evansi (K.) Verwendung. Von einer T. evansi (B.)-bzw. T. evansi (K.)-Passagemaus, deren Blut im Nativpräparat 5 - 50 Parasiten pro Blickfeld aufwies, wurde aus dem retroorbitalen Venenplexus Blut entnommen. Entsprechend der Methode nach MÜHLPFORDT (1964) wurden die Trypanosomen in einer Thoma-Kammer ausgezählt. Die Einstellung der Trypanosomenkonzentration erfolgte mit BSG (Bicine-Saline-Glucose)-Puffer, pH 7,2.

Infektionsart

Die Tiere wurden intravenös infiziert; die Ziegen in die V. jugularis, die Kaninchen in die Ohrvene.

Blutuntersuchungen

Den Kaninchen wurde bis zur letzten Therapie 3 x wöchentlich, den Ziegen 2 x wöchentlich Blut entnommen. In den folgenden 4 - 6 Wochen fanden bei beiden Tierarten Blutuntersuchungen 2 x wöchentlich, danach für 5 Monate 1 x pro Woche und für 2 Monate 1 x pro 14 Tage statt. Bei den Ziegen wurde das Blut aus der V. jugularis, bei den Kaninchen aus der Ohrvene unter Zugabe von EDTA gewonnen. Die Erythrozytenzahl (Ery) und der Hämoglobingehalt (Hb) wurden an einem Spektralphotometer (Spectronic 700, Fa. Bausch und Lomb; Reagenzien Fa. Merck) bei 578 bzw. 546 nm gemessen, der Mikrohämatokritwert (Hkt) an einer Hämatokritschablone abgelesen. Der Parasitennachweis erfolgte anhand von Nativpräparaten und der Methode nach WOO (1969). Die Nativpräparate wurden in jeweils 50 Gesichtsfeldern unter dem 40 x Objektiv auf die Anwesenheit von Trypanosomen kontrolliert. Bei der Woo-Methode wurde die Serumschicht eines Hämatokritröhrchens nahe der Leukozytenschicht auf ihren Trypanosomengehalt hin untersucht.

Bei der Beurteilung kam folgender Bewertungsmaßstab zur Anwendung:

Nativpräparat	Woo-Methode
1+ : 1-3 Tryp./Deckglas	1+ : 1-10 Tryp.
2+ : 1 Tryp./Blickfeld	2+ : 10-50 Tryp., ohne Agglutination
3+ : 2-5 Tryp./Blickfeld	3+ : 50-100Tryp., Agglutinationen
4+ : 5-50 Tryp./Blickfeld	4+ : > 100Tryp.,
5+ : > 50 Tryp./Blickfeld	

Behandlung

Therapiert wurde mit Berenil^{R} (4,4'-Diamidino-diazoaminobenzol-diaceturat; Fa. Höchst) bzw. Naganol^{R} (Suramin; Fa. Bayer). Berenil^{R} wurde nach Wirksubstanz berechnet. Beide Medikamente wurden in steriler 0,9%-iger NaCl-Lösung gelöst und intramuskulär verabreicht.

Serologische Untersuchungen

Die Serumgewinnung erfolgte analog den Daten der Blutuntersuchungen. 2 Stunden nach der Blutentnahme wurde das Serum bei 3000 U/min. (750g) abzentrifugiert, in 0,5 ml-Portionen in Eppendorf-Reaktionsgefäße abgefüllt und bis zur serologischen Aufarbeitung bei -20^{o}C gelagert.

Zur Antigengewinnung wurden stark parasitierte Mäuse in Vollnarkose durch Punktion des retroorbitalen Venenplexus unter Zugabe von Heparin^{R} entblutet. Die Abtrennung der Trypanosomen von den korpuskulären Blutbestandteilen erfolgte mit Hilfe der Ionenaustausch-Chromatographie mit DEAE-Sephadex A50 (Fa. Pharmacia, Uppsala) nach der Methode von LANHAM (1968). Das Eluat wurde 2 x bei 1 800g über je 20 Minuten zentrifugiert und jeweils in PSG (Phosphate-Saline- Glucose)-Puffer gewaschen, die im Bodensatz konzentrierten Trypanosomen bei -20^{o}C eingefroren. Nach Auftauen wurden die Trypanosomen mittels Ultraschall bei 50 Watt über 5 x 10 Sekunden (Sonifer^{R}-B12, Fa. Branson Sonic Power) zerstört und durch 16-stündiges Rühren auf einem Magnetrührer bei +4^{o}C das Parasitenhomogenat extrahiert. Die Suspension wurde bei 20 000 U/min. (44 720g) über 60 Minuten bei +4^{o}C zentrifugiert; der Überstand stellt das somatische

Extraktantigen dar. Nach Eiweißbestimmung des Extraktantigens nach der Methode von LOWRY (1951) wurde das Antigen in Eppendorf-Reaktionsgefäße gefüllt und in Portionen von 0,5 ml und bei -20°C bis zum Gebrauch eingefroren.
Zur Herstellung von Hochimmunseren dienten 2 Ziegen und 2 Kaninchen. Pro Tier wurden 0,2 ml somatisches Extraktantigen mit einem Proteingehalt von 2 mg zu gleichem Teil mit komplettem Freud'schen Adjuvans versetzt und intramuskulär gespritzt. Mit einer wiederholten intramuskulären Applikation derselben Antigenmenge wurde nach 2 Wochen zum ersten Mal, nach weiteren 14 Tagen durch eine intravenöse Gabe von 1 mg Protein ohne Adjuvans zum zweiten Mal geboostert. 14 Tage später wurde Blut entnommen, bei 1 500g über 20 Minuten zentrifugiert und das gewonnene Hochimmunserum in Eppendorf-Reaktionsgefäßen zu 0,5 ml-Portionen bei -20°C eingefroren.

Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Trypanosoma-Antikörpern und zirkulierenden Trypanosoma-Antigenen wurden mit Hilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (ENGVALL und PERLMANN, 1972) im Mikrosystem (VOLLER, et.al., 1975) durchgeführt. Das Prinzip des ELISA beruht auf der Eigenschaft des Kunststoffes Polystyrol^{R}, Proteine in molekularer Form derart an seiner Oberfläche zu binden, daß selbst hartnäckige mechanische Waschprozesse die Proteinbindung nicht zu lösen vermögen. Auf diese Weise können in Polystyrol-Röhrchen oder Polystyrol-Mikrotiterplatten Immunreaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern in vitro vollzogen und durch ein Enzym-Substrat-Indikator-System sichtbar gemacht werden.
Der ELISA wurde in der vorliegenden Arbeit zum einen zum Nachweis von Antikörpern gegen T. evansi bei Kaninchen und Ziegen nach experimenteller Infektion angewandt, zum anderen wurde mit Hilfe dieses Testes versucht, zirkulierende Exoantigene, d.h. Stoffwechselprodukte mit antigenem Charakter, von T. evansi im Serum experimentell infizierter Kaninchen und Ziegen aufzuspüren.

Für die Durchführung der Testansätze wurden folgende Materialien benötigt:
Als Mikrotiterplatten kamen Mikrotiter-Dynatech Microelisa^{R} zur Anwendung. Der zur Herstellung der Antigen-, Serum- und Konjugatverdünnungen verwendete PBS-Puffer (NaCl-Puffer nach Coons) bestand aus 17,8g $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$, 1,36g KH_2PO_4, 87,7g NaCl und Aqua dest. ad 10 l; der pH-Wert betrug 7,2. Um unspezifische Anlagerungen von Proteinen an die Wände der Mikrotiterplatten zu vermeiden, wurde dem PBS-Puffer zu 0,05% Tween 20 und Bovines Serumalbumin (BSA) zu 0,5% bei Verdünnungen von Seren bzw. in einer Konzentration von 4% bei Konjugat und Hochimmunseren zugegeben. Das Substrat bestand aus einer bei 70°C in Aqua dest. gelösten 0,08%-igen 5-Amino-2-hydroxybenzoesäure (Fa. Merck), die vor Gebrauch mit 1 N NaOH auf pH 6 eingestellt und im Verhältnis 1 : 10 mit 0,05%-igem Wasserstoffperoxyd vermischt wurde. Die Enzymreaktion wurde mit 1 N NaOH abgestoppt. Die photometrische Bestimmung des Farbumschlags erfolgte in einer Multiscan-Titertek^{R} (Fa. Flow) bei 405 nm mit automatischem Ausdruck der Absorptionswerte.
Als Antigen wurde somatisches Extraktantigen aus T. evansi (B.) in einer Proteinkonzentration von 25 µg/ml bei beiden Tierarten verwendet. Hochimmunseren vom Kaninchen mit einem Endtiter von 1 : 4 096 und von der Ziege mit einem Endtiter von 1 : 512 wurden benutzt. Als Konjugat (Antiglobulin) diente bei Ziegen das mit Peroxydase gekoppelte Kaninchen-Anti-Ziege Immunoglobulin G (Fa. Paesel), 1 : 1 000 verdünnt, bei Kaninchen peroxydasemarkiertes Schaf-Anti-Kaninchen IgG (Fa. Pasteur) in einer Verdünnung von 1 : 1 500.

Die Untersuchung der Seren auf ihren Antikörpergehalt erfolgte mit Hilfe des "Indirekten Antikörpernachweises"; der Nachweis zirkulierender T. evansi-Antigene wurde anhand eines "Direkten Antigennachweises", des "Antikörper-Hemmungstestes", einer Modifizierung des "Double-Antibody-Tests" und einer eigenentwickelten Methode mit dem Versuch der Spaltung von Immunkomplexen geführt.

Der "Indirekte Antikörpernachweis"wurde nach folgender Methode ausgeführt (Schema 1):

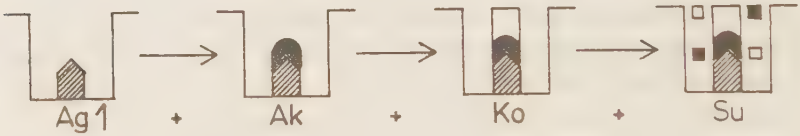
- 50 µl Antigen-Suspension pro Kavität
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- unterste Reihe: 25 µl unverdünntes Serum und 75 µl 0,5%-iges BSA-PBS pro Kavität
  übrige Reihen: 50 µl 0,5%-iges BSA-PBS pro Kavität
  Herstellung einer Serumverdünnungsreihe von 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16etc.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Konjugat (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 100 µl Substrat pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei Zimmertemperatur
- 50 µl 1 N NaOH pro Kavität
- 10 Sekunden auf einem Schüttelgerät
- photometrische Auswertung

Anmerkung zu den Symbolen:

Ag	= Antigen	Ak	= Antikörper
Ag1	= Antigen, gesuchtes	Ak-A	= Antikörper der Tierart A
Ag2	= Antigen, vorgelegtes	Ak-B	= Antikörper der Tierart B
Ag-Ak	= Antigen-Antikörper-Komplexe	Ko	= Konjugat
		Su	= Substrat

Der Arbeitsgang des "Direkten Antigennachweises" umfaßte folgende Schritte (Schema 2):

- unterste Reihe: 25 µl unverdünntes Serum und 75 µl PBS-Puffer pro Kavität
  übrige Reihen: 50 µl PBS-Puffer pro Kavität
  Herstellung einer Serumverdünnungsreihe von 1 : 4, 1 : 8, etc.
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Hochimmunserum (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kav.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Konjugat (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- weiter wie Antikörpernachweis



Beim im folgenden aufgeführten "Antikörper-Hemmungstest" (Schema 3) wird das antigenhaltige Serum mit einem standardisierten Hochimmunserum inkubiert (Platte 1). Die nicht gebundenen Antikörper des Hochimmunserums werden danach in eine zweite antigenbeschichtete Platte übertragen (Platte 2) und anhand dieser Platte ein indirekter Antikörpernachweis geführt. Eine Erniedrigung des Titers der übertragenen Antikörper gegenüber dem als Kontrolle in Platte 2 mitlaufenden Hochimmunserum weist indirekt die Anwesenheit von Antigenen im Testserum der Platte 1 nach.

Schema 3 : Antigennachweis im Antikörper-Hemmungstest

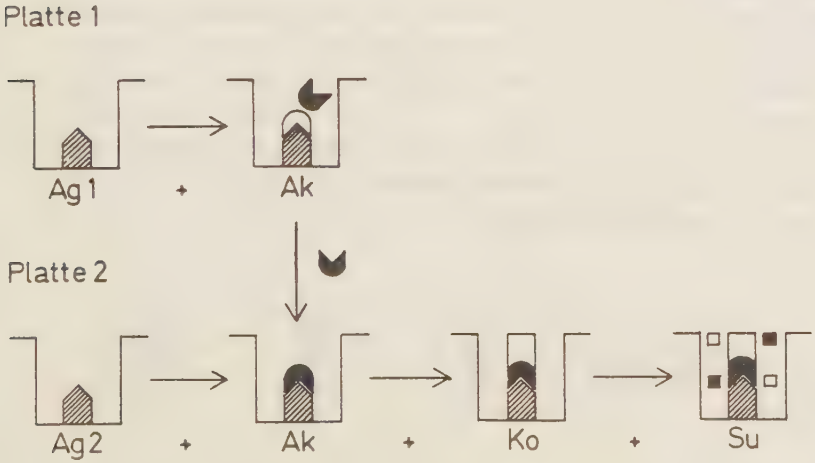
Platte 1

- 100 µl unverdünntes Serum pro Kavität
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 100 µl Hochimmunserum (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kav.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- 100 µl Hochimmunserum pro Kavität der Platte 1 in Platte 2 überpipettieren

Platte 2 war zuvor mit 50 µl Antigen-Suspension pro Kavität beschichtet, 3 Stunden bei 37°C und anschließend über Nacht bei +4°C inkubiert und mit Leitungswasser ausgewaschen worden

Platte 2

- 100 µl Hochimmunserum pro Kavität aus Platte 1 in unterste Reihe
- alle Reihen: 100 µl 4%-iges BSA-PBS pro Kavität
  Herstellung einer Hochimmunserum-Verdünnungsreihe von 1 : 2, 1 : 4 etc.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Konjugat (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- weiter wie Antikörpernachweis



Beim "Double-Antibody-Test" (Schema 4) kommen die gegen den Erreger gerichteten Antikörper zweimal im Verlauf des Tests zur Anwendung; einmal in Form von Hochimmunserum, das andere Mal als mit Peroxydase gekoppelte enzymmarkierte Antikörper, welche ein erregerspezifisches Konjugat darstellen. Da das Enzym Peroxydase nur mittels schwieriger chemischer Mechanismen an Antikörper angekoppelt werden kann (NAKANE, KAWOI, 1974; WILSON, NAKANE, 1978) modifizierte ich diesen Test. In Umgehung der Enzymmarkierung verwendete ich in Form von Hochimmunserum der Tierart B ebenfalls spezifisch gegen den Erreger gerichtete Antikörper, woran ich einen Pipettierschritt 'Anti-Tierart B-Konjugat' anschloß.

Schema 4: Antigennachweis anhand einer Modifizierung des Double-Antibody-Test

- 50 µl Hochimmunserum der Tierart A (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- unterste Reihe: 25µl unverdünntes Serum der Tierart A und 75 µl PBS-Puffer pro Kavität
  übrige Reihen: 50 µl PBS-Puffer pro Kavität
  Herstellung einer Serumverdünnungsreihe von 1 : 4, 1 : 8 etc.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Hochimmunserum der Tierart B (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Anti-Tierart B-Konjugat (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kav.
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- weiter wie Antikörpernachweis

Der Methode mit dem Versuch der Trennung von Immunkomplexen (Schema 5) lag die Überlegung zugrunde, daß durch in vivo vorhandene Antigen-Antikörper-Komplexe zirkulierendes Antigen durch Antikörper maskiert werden könnte. Erfolge bei der Spaltung von Antigen-Antikörper-Komplexen waren von DODD, KOBITA (1978), BOUT et al.(1977) und CHAVES et al. (1979) durch pH-Erniedrigung mit Glycin-HCl erzielt worden. Meine Modifizierung bestand darin, die im Serum vorhandenen Immunkomplexe mittels der Antikörper und freizirkulierende Antikörper an eine Platte 1 anzulagern und die Antigene durch Zugabe von 0,1 m Glycin-HCl-Puffer, pH 3 aus diesen Komplexen herauszulösen. Das möglicherweise freigewordene Antigen wird mit dem Glycin-HCl-Puffer zusammen in eine Platte 2 übertragen, in der bereits ein Carbonatpuffer-Gemisch (0,1 m Na_2CO_3 = 2,93 ml, 0,1 m $NaHCO_3$ = 7,07 ml) zum pH-Ausgleich vorgelegt worden war. Hierdurch wird ein End-pH-Wert von 7,2 erreicht, welcher für die Anlagerung von Proteinen günstig ist. Bei einer gelungenen Spaltung von Immunkomplexen wird in der Platte 2 das freie Antigen an Polystyrol adsorbiert und mit Hochimmunserum der Tierart B ein indirekter Antigennachweis geführt.

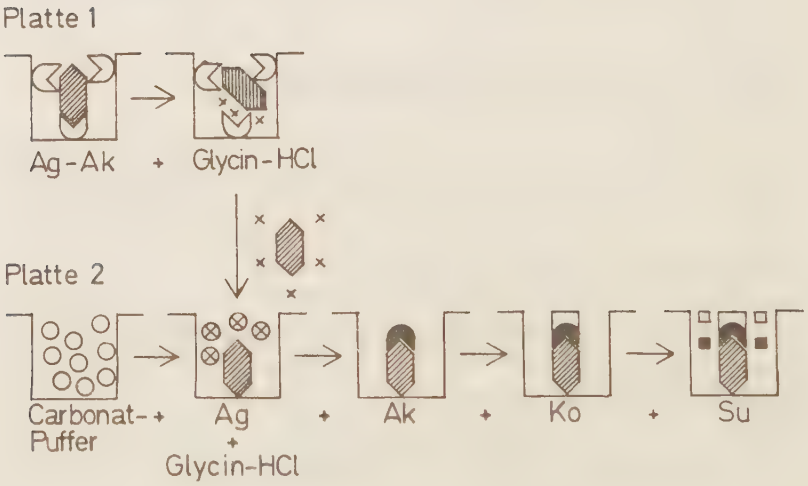
Schema 5: Antigennachweis mit der Spaltungsmethode

Platte 1

- unterste Reihe: 25 µl unverdünntes Serum und 75 µl PBS-Puffer pro Kavität
  übrige Reihen: 50 µl PBS-Puffer pro Kavität
  Herstellung einer Serumverdünnungsreihe von 1 : 4, 1 : 8 etc.
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl 0,1 m Glycin-HCl-Puffer pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät

Platte 2

- 50 µl Carbonat-Puffer pro Kavität
- 50 µl Antigen-Glycin-HCl-Puffer-Gemisch aus Platte 1 pro Kavität
- 3 Stunden Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- über Nacht Lagerung bei +4°C
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Hochimmunserum der Tierart B (mit 4%-igem BSA-PBS verdünnt) pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- Auswaschen mit Leitungswasser
- 50 µl Anti-Tierart B-Konjugat (verdünnt mit 4%-igem BSA-PBS) pro Kavität
- 1 Stunde Inkubation bei 37°C auf einem Taumelgerät
- weiter wie Antikörpernachweis



3.2. Ergebnisse

3.2.1. Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Bali, bei Ziegen

3.2.1.1. Parasitämieverlauf

4 Ziegen wurden mit T. evansi (B.) infiziert. Am 3. Tag p.i. waren alle Tiere im Woo-Test positiv (1+). Nach geringgradigem Parasitenbefall - einige Tiere waren sogar mikroskopisch frei - wurde ein Höhepunkt der Parasitämie (Woo-Test: 2-3+) am 13. Tag p.i. erreicht. Bei 2 Ziegen (Tier 1, Tier 2) verlief die Parasitämie sehr schwach (Woo-Test: 1-2+) mit gelegentlich parasitenfreien Phasen. Tier 1 wies ab dem 136. Tag, Tier 2 ab dem 151. Tag p.i. bis Versuchsabschluß (356. Tag p.i.) negative Werte auf. Die 2 anderen Ziegen (Tier 3, Tier 4) zeigten bis zur Behandlung am 118. bzw. 180. Tag p.i. einen ähnlichen Verlauf der Parasitämie. Nach Chemotherapie konnten bei diesen Tieren bis Versuchsende (356. Tag p.i.) zu keinem Zeitpunkt Parasiten nachgewiesen werden.

3.2.1.2. Hämatologische Untersuchungen

Bei den Ziegen wurden schon vor der Infektion erhebliche Schwankungen der Blutwerte beim Einzeltier beobachtet. Dadurch wurde die Beurteilung der Veränderungen der Blutwerte im Laufe der Infektion erheblich erschwert.

Der Hämatokritwert der nicht infizierten Ziegen lag in einem Bereich von 28 - 33%. Nach der Infektion verringerte er sich innerhalb von 5 - 15 Wochen auf 20 - 22%. Danach folgte eine schrittweise Angleichung an die Ausgangswerte, sodaß ab der 32. - 42. Woche p.i. physiologische Werte erreicht wurden, die sich bis Versuchsende stabilisierten.

Die Erythrozytenzahl lag vor der Infektion bei 11,7 - 15,5 Mill./µl Blut. Ein Abfall auf 6,5 - 12 Mill. stellte sich bis zur 3. - 4. Woche p.i. ein. Mit ansteigender Tendenz wurde in der 8. - 9. Woche p.i. eine Erythrozytenzahl von 9 - 13 Mill. erreicht. In der Folgezeit pendelte die Zahl bis zu 2 Mill. unter diesen Wert. Danach stieg die Erythrozytenzahl bis zur 18.- 28. Woche p.i. auf das Ausgangsniveau an.

Der Hämoglobingehalt betrug vor der Infektion 9,5 - 10,7g/100 ml Blut. Ab der 3. Woche p.i. fielen die Werte kontinuierlich ab; der Tiefpunkt lag in der 10. - 14. Woche p.i. bei 7 - 8,5g. Von diesem Zeitpunkt an erfolgte ein phasenförmiger Anstieg auf physiologische Werte, die ab der 35. - 43. Woche p.i. erreicht wurden.

3.2.1.3. Chemotherapie

Eine Chemotherapie wurde bei 2 der 4 Ziegen am 118. Tag (Tier 3) bzw. 180. Tag p.i. (Tier 4) mit 12,5 mg Berenil-Wirksubstanz/kgKGW durchgeführt. Bereits am 1. Tag nach Therapie waren die Ziegen im Woo-Test mikroskopisch frei; der biologische Tierversuch ab dem 222. Tag p.i. verlief über einen Beobachtungszeitraum von 3 Monaten negativ. Die Blutwerte besserten sich innerhalb von 4 Monaten und erreichten die Ausgangswerte im 8. - 10. Monat p.i..

3.2.1.4. Serologische Untersuchungen mit dem ELISA

Die Antikörperbildung wurde mithilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) verfolgt und als Titerverlaufskurven (Abb. 1-4) dargestellt. Seren, die vor der Infektion der 4 Ziegen mit T. evansi (B.) gewonnen worden waren, zeigten unspezifische Reaktionen bis zu Serumverdünnungen von 1 : 16, sodaß bei der Auswertung Titer ab 1 : 32 als positiv beurteilt wurden.
Ab dem 10. - 15. Tag p.i. konnte bei allen Ziegen der Beginn einer Antikörperbildung mit dem ELISA erfaßt werden. Es folgte ein stufenförmiger Titeranstieg über kürzere oder längere Zeit, der zu Maximaltitern von 1 : 256 - 1 : 512 zwischen dem 17. und 118. Tag p.i. führte. Die Titer hielten sich auf diesen Plateaus oder pendelten um eine Stufe nach unten. Bei 2 Tieren ohne Behandlung (Tier 1, Tier 2) fielen die Titer von 1 : 256 mehr oder weniger steil um zwei bis drei Stufen ab dem 126. bzw. 215.Tag p.i. ab. Bei Tier 2 verringerte sich der Titer bis zum 161. Tag p.i. auf 1 : 8 und blieb bis Versuchsende (356. Tag) im negativen Bereich. Ein Titer von 1 : 16 wurde bei Tier 1 am 272. Tag p.i. erreicht. Eine Chemotherapie von Tier 3 am 118. Tag p.i. während eines Abfalls des Titers von 1 : 512 ergab eine Titerreduzierung um zwei Stufen bis zum 3. Tag p. th.. Bei

einem weiteren stufenförmigen Absinken des Titers wurde am 251. Tag p.i. ein Wert von 1 : 16 erreicht. Eine Behandlung von Tier 4 am 180. Tag p.i., nachdem der Maximaltiter von 1 : 256 auf 1 : 64 abgefallen war, ließ den Titer ab dem 270. Tag p.i. auf 1 : 16 absinken.
Zirkulierende T. evansi-Antigene konnten nicht bei den 4 experimentell mit T. evansi (B.) infizierten Ziegen mithilfe des ELISA über einen Untersuchungszeitraum von 12 Monaten nachgewiesen werden.

Abb. 1: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 1 (T. evansi (B.)), ohne Behandlung

Abb. 2: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 2 (T. evansi (B.)), ohne Behandlung

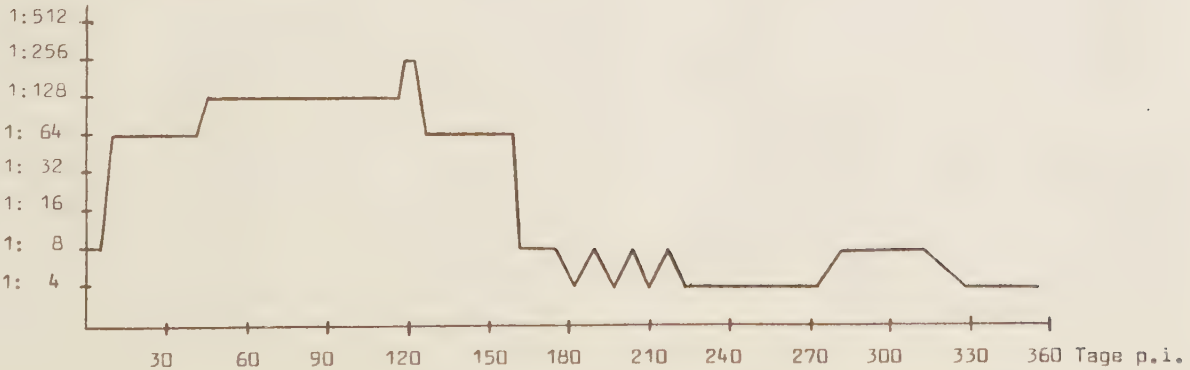


Abb. 3: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 3 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 118.Tag p.i.

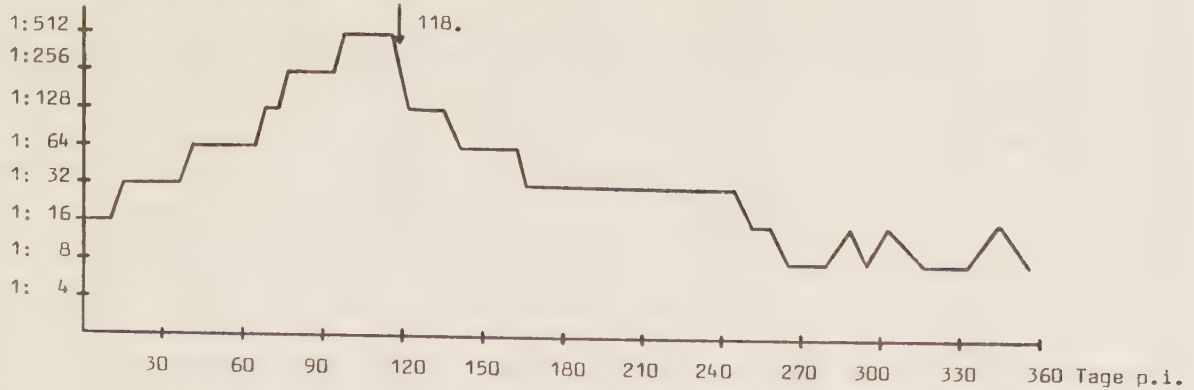
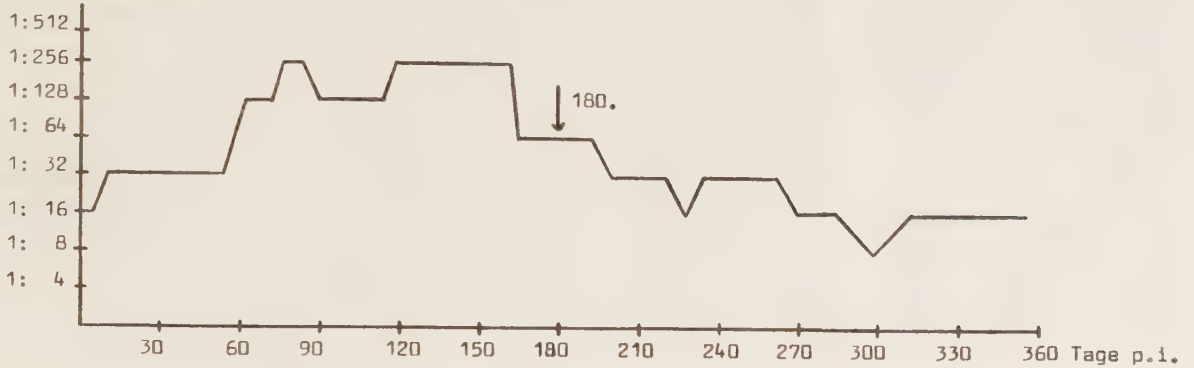


Abb. 4: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 4 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 180.Tag p.i.



3.2.2. Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Bali, bei Kaninchen

3.2.2.1. Parasitämieverlauf

9 Kaninchen wurden mit T. evansi (B.) infiziert. Die Präpatenzperiode betrug 2 - 5 Tage (Woo-Test: 1 - 2+). Zu Höhepunkten der Parasitämie (Woo-Test: 3 - 4+; Nativpräparat: 1 - 3+) kam es am 5., 15. - 18., 21. - 25., 27. - 34. und 37. - 41. Tag p.i.. Nach dem 1. Peak (5. Tag p.i.) unterschritten die Werte bis zum Zeitpunkt der Behandlung nie die Grenze von 2+ im Woo-Test.

3.2.2.2. Hämatologische Untersuchungen

Die Blutwerte lagen vor der Infektion beim Hämatokrit bei 35 - 44%, bei der Erythrozytenzahl bei 5,4 - 7 Mill./µl Blut und beim Hämoglobingehalt bei 10,3 - 15g/100 ml Blut. Die Hämatokritwerte schwankten vor der Infektion beim Einzeltier um 3%, die Erythrozytenzahl um 0,5 Mill. und der Hämoglobinwert um 0,5g.
Ab der 1. Woche p.i. kam es zu einem kontinuierlichen Abfall der drei Blutparameter bis zur 5. Woche p.i., in der die Tiere therapiert wurden. Der Hämatokritwert verringerte sich um 8 - 12% auf 24 - 30%, die Erythrozytenzahl nahm um 1,1 - 1,9 Mill. auf 3,8 - 4,3 Mill. ab und der Hämoglobingehalt erreichte nach Abfall um 2,3 - 4g einen Tiefpunkt in 7,7 - 9,5g.
Die Veränderungen der Blutwerte im Verlauf der Infektion werden am Beispiel von 3 Kaninchen (Nr. 1,3,9) in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Blutwerte der infizierten Kaninchen (T. evansi (B.)) vor der Behandlung

Kaninchen Nr. 1					Kaninchen Nr. 3					Kaninchen Nr. 9				
Tage p.i.	Hkt	Hb	Ery	P	Tage p.i.	Hkt	Hb	Ery	P	Tage p.i.	Hkt	Hb	Ery	P
	38^{++}	$12,00^{++}$	$5,50^{++}$	-		38^{++}	$12,80^{++}$	$6,00^{++}$	-		35^{++}	$11,30^{++}$	$5,50^{++}$	-
5^{+}	36	12,36	6,08	3+	5^{+}	38	12,59	6,32	3+	5^{+}	33	10,27	5,25	1+
7	32	10,70	5,00	-	7	34	10,93	5,27	-	7	33	10,19	5,02	-
15^{+}	28	9,38	4,32	4+	15^{+}	36	12,11	5,74	3+	18^{+}	38	12,22	5,62	3+
17	26	8,60	4,10	2+	17	32	10,93	4,80	2+	20	35	11,33	5,62	2+
21^{+}	30	9,31	4,30	3+	24^{+}	30	9,13	3,98	3+	25^{+}	33	10,30	4,88	3+
24	29	9,09	4,02	2+	26	30	8,76	4,09	2+	27	32	9,64	4,75	2+

Anmerkungen:

P = Parasitämie im Woo-Test

$^{++}$= Normalwerte

$^{+}$= Parasitämiegipfel

Nach Chemotherapie, mit welcher eine parasitäre Heilung erzielt wurde, erreichten die Blutparameter spätestens am 40. - 45.Tag p.th. das Niveau der Ausgangswerte und stabilisierten sich bis zum Versuchsende (291.Tag).

3.2.2.3. Chemotherapie

Mit einer Chemotherapie wurde eine parasitäre Heilung angestrebt. Bei relativ hoher Parasitämie (Woo-Test: 2 - 4+) und bei beginnenden klinischen Symptomen, wie Freßunlust, Ohrödeme und Apathie, wurden die Kaninchen behandelt. Eine Chemotherapie wurde relativ früh eingeleitet, um Todesfälle zu vermeiden. Von den 9 Kaninchen wurden 3 mit Berenil, 5 mit Naganol und eines mit beiden Medikamenten therapiert (Tabellen 2 - 4). Eine Behandlung von Kaninchen 1, 2, 3 und 9 mit Berenil führte zu keiner parasitären Heilung, da die Kaninchen weiterhin Parasitenträger waren (Woo-Test) oder innerhalb von 1 - 5 Wochen mikroskopisch Rückfälle zeigten. Bei Behandlung mit Berenil in hoher Dosierung traten zudem bei Kaninchen 2 und 3 toxische Nebeneffekte am Zentralnervensystem auf, die sich in einer Inkoordination der Tiere, Rollbewegungen und Paralysen äußerten. Die beiden Kaninchen starben 2 - 8 Tage nach der letzten Behandlung. Kaninchen 1 verendete interkurrent. Bei Kaninchen 9 erbrachte Berenil keine parasitäre Heilung, weshalb die Therapie mit Naganol fortgeführt wurde.Da Naganol in einer Dosierung bis zu 5mg/kgKGW bei Kaninchen 4 - 8 keine Parasitenfreiheit ergeben hatte, wurde die Dosis auf 20mg/kgKGW bei Wiederholungsbehandlungen von Kaninchen 4 - 8 und 9 erhöht. Mit 20mg/kgKGW wurde bei Kaninchen 4- 9 eine parasitäre Heilung ab dem 1.Tag p.th. erzielt. Die Parasitenfreiheit wurde neben der mikroskopischen Blutuntersuchung auch im biologischen Tierversuch (Übertragung von Blut eines mikroskopisch parasitenfreien Tieres auf Mäuse), ausgeführt ab dem 94. - 116.Tag p.th., über einen Beobachtungszeitraum von 3 Monaten getestet.

Tabelle 2: Behandlung von 3 Kaninchen mit Berenil

Kan. Nr.	Therapie (Tage p.i.)		Dosis (mg/ kgKGW)	Parasit. (Woo- Test)	Sterili- satio	Toxischer Effekt
1	1.	34	29,0	2+	neg.	neg.
	2.	--	----	--	----	--
2	1.	34	29,0	3+	neg.	neg.
	2.	43	42,0	1+	neg.	+
3	1.	38	12,5	2+	neg.	neg.
	2.	43	29,0	1+	neg.	+

Tabelle 3: Behandlung von 5 Kaninchen mit Naganol

Kan. Nr.	Therapie (Tage p.i.)		Dosis (mg/ kgKGW)	Parasit. (Woo- Test)	Sterili- satio	Toxischer Effekt
4	1.	30	5,0	4+	neg.	neg.
	2.	36	2,5	4+	neg.	neg.
	3.	63	20,0	3+	+	neg.
5	1.	30	5,0	2+	neg.	neg.
	2.	50	20,0	2+	+	neg.
6	1.	37	5,0	3+	neg.	neg.
	2.	72	20,0	1+	+	neg.
7	1.	42	5,0	2+	neg.	neg.
	2.	50	20,0	1+	+	neg.
8	1.	42	5,0	3+	neg.	neg.
	2.	50	20,0	2+	+	neg.

Tabelle 4: Behandlung von 1 Kaninchen mit Berenil und Naganol

Kan. Nr.	Therapie (Tage p.i.)		Berenil (mg/ kgKGW)	Naganol (mg/ kgKGW)	Parasit. (Woo- Test)	Sterili- satio	Tox. Eff.
9	1.	38	29,0	----	3+	neg.	neg.
	2.	62	10,0	----	1+	neg.	neg.
	3.	63	10,0	----	1+	neg.	neg.
	4.	64	10,0	----	1+	neg.	neg.
	5.	69	12,5	----	1+	neg.	neg.
	6.	112	----	20,0	2+	+	neg.

3.2.2.4. Serologische Untersuchungen mit dem ELISA

Die serologischen Untersuchungen von Kaninchenseren im ELISA erbrachten präinfektionelle und damit unspezifische Titer bis 1:32. Dadurch ergaben sich positive Bewertungen ab 1 : 64.
Am 10.Tag p.i. gelang bei 8 Kaninchen (Nr. 1 - 8) der erste Antikörpernachweis mit Titern von 1 : 64 bis 1 : 128 bzw. 1 : 256 bei Kaninchen 4. Bei Kaninchen 9 zeigte sich erstmals am 15.Tag p.i. eine serologische Reaktion mit einem Titer von 1 : 512, der bis zum 31.Tag p.i. auf 1 : 128 absank. Die Titer der übrigen Kaninchen (Nr. 1 - 8) erhöhten sich am 15.Tag p.i. um eine Stufe auf 1 : 128 bis 1 : 256 bzw. 1 : 512 (Nr. 2). Während der anschließenden Behandlungsversuche mit Berenil, ohne daß eine parasitäre Heilung erzielt wurde, stabilisierten sich die Titer auf diesen Plateaus, pendelten um eine Stufe nach unten oder stiegen bei 3 Kaninchen (Nr. 4, 5, 7) zwischen dem 34. und 48.Tag auf 1 : 256 bis 1 : 512 an. Die Maximaltiter lagen somit bei 4 Kaninchen (Nr. 2, 4, 5, 9) bei 1 : 512 - welcher bei Kaninchen 9 vor Behandlung auf 1 : 128 abfiel -, bei 3 Kaninchen (Nr. 6, 7, 8) bei 1 : 256 und bei 2 Kaninchen (Nr. 1, 3) bei 1 : 128. Eine während dieser Höhepunkte der Titerverlaufskurven angewandte Chemotherapie mit Berenil bzw. mit bis zu 5mg Naganol/kgKGW blieb ohne Einfluß auf die Antikörperbildung, wie der Kurvenverlauf verdeutlicht. Im Gegensatz hierzu führte eine Behandlung mit 20mg Naganol/kgKGW zu einer Titerreduzierung um 1 bis 2 Stufen innerhalb von 14 - 23 Tagen. 2 Kaninchen (Nr. 7, 8) wurden am 50.Tag p.i. bei einem Titer von 1 : 256 behandelt. Die Titer sanken auf 1 : 32 am 190. bzw. 137.Tag p.i. ab. Ein Kaninchen (Nr. 6) wurde bei gleicher Titerhöhe (1 : 256) am 72.Tag p.i. therapiert. Der Titer verringerte sich bis zum 173.Tag p.i. auf 1 : 32. Bei Titern von 1 : 512 wurden 2 Kaninchen am 50. (Nr. 5) bzw. 63.Tag p.i. (Nr. 4) chemotherapiert. Der Titer fiel auf 1 : 32 bei Kaninchen 5 am 234. Tag, bei Kaninchen 4 am 240.Tag p.i. ab.
In den Seren von mit T. evansi (B.) infizierten Kaninchen konnte mit den angewandten ELISA-Techniken über die Dauer von 10 Monaten kein zirkulierendes Antigen gefunden werden.

Abb. 5: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 4 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 30., 36. und 63.Tag p.i.

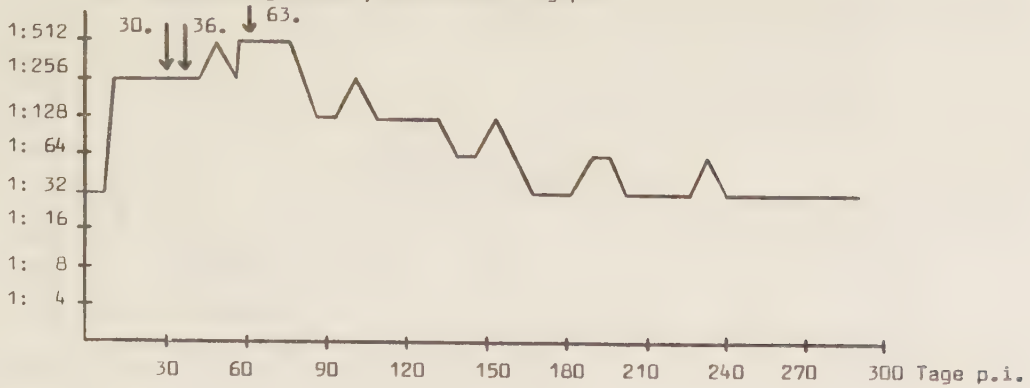


Abb. 6: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 5 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 30. und 50.Tag p.i.

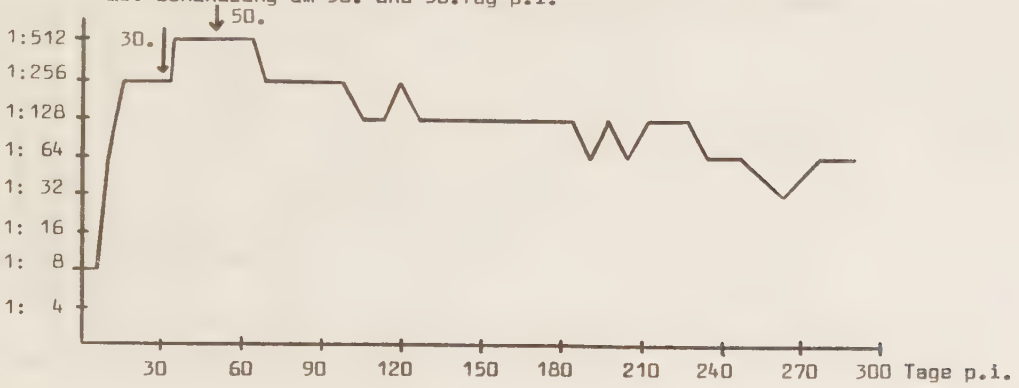


Abb. 7: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 6 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 37. und 72.Tag p.i.

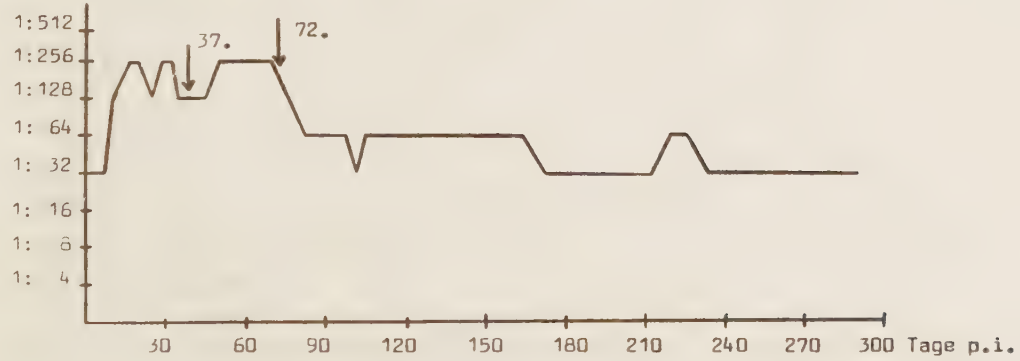


Abb. 8: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 7 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 42. und 50.Tag p.i.

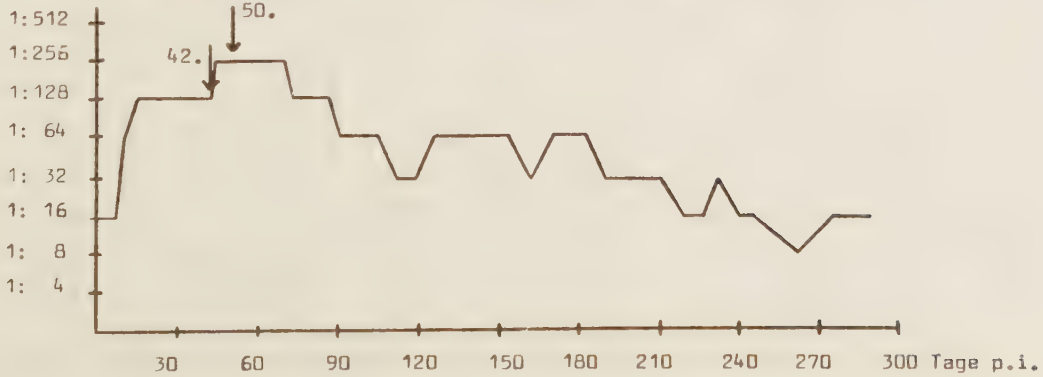


Abb. 9: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 8 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 42. und 50.Tag p.i.

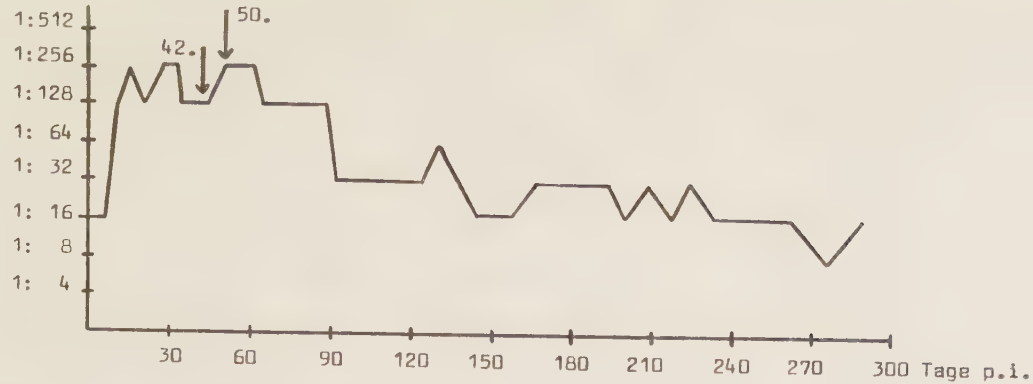
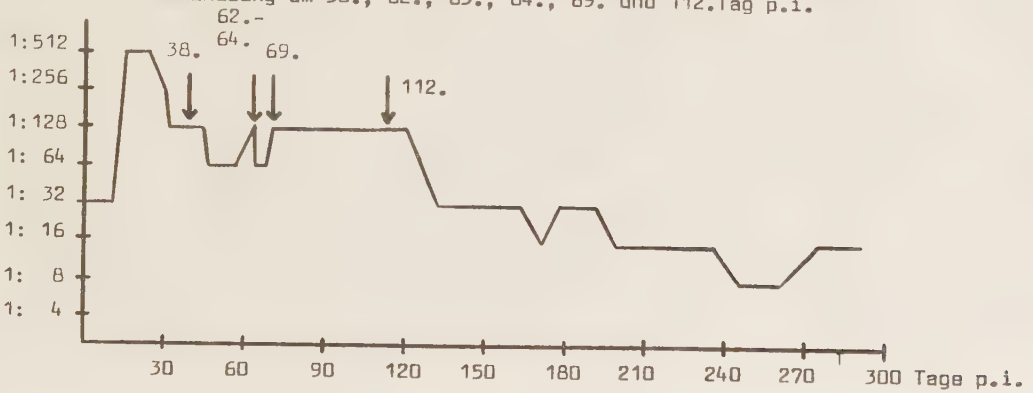


Abb.10: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Kaninchen 9 (T. evansi (B.)), mit Behandlung am 38., 62., 63., 64., 69. und 112.Tag p.i.



3.2.3. Infektion mit Trypanosoma evansi, Stamm Kairo, bei Ziegen

3.2.3.1. Parasitämieverlauf

4 Ziegen wurden mit T. evansi (K.) infiziert. Die Präpatenzzeit betrug bei 2 Ziegen 2 Tage, bei 2 Ziegen 10 Tage. 2 Ziegen(Tier 1, 4) entwickelten eine kontinuierliche Parasitämie von 1+ (Woo-Test), die nur kurzfristig von mikroskopisch parasitenfreien Perioden unterbrochen wurde. Nach Behandlung von Tier 4 am 180. Tag p.i. blieb das Tier ab dem 1. Tag p.th. bis Versuchsende (356.Tag) frei. Die beiden anderen Ziegen (Tier 2, 3) zeigten einen phasenförmigen Verlauf der Parasitämie, wobei sich parasitenfreie Phasen mit parasitologisch positiven Perioden abwechselten (Woo-Test: negativ bis 2+). Tier 3 wurde am 94. Tag p.i. therapiert und war ab dem folgenden Tag bis Versuchsende (333.Tag) parasitenfrei.

3.2.3.2. Hämatologische Untersuchungen

Die Ziegen wiesen ebenfalls vor der Infektion Schwankungen des Hämatokrits um 3%, der Erythrozytenzahl um 1,5 Mill. und des Hämoglobingehalts um 1,5g beim Einzeltier auf.
Der Hämatokritwert hatte einen durchschnittlichen Ausgangswert von 27 - 33%. Er verringerte sich ab der 1. - 3.Woche als Folge der Infektion bis zur 6. - 18.Woche p.i. auf 20 - 26%. Ab der 25. - 32. Woche p.i. erholte sich der Hämatokrit nach der Behandlung bis zum anfänglichen Prozentsatz mit Ausnahme einer Ziege, welche nicht behandelt worden war (Nr.1).
Die Erythrozytenzahl betrug zu Beginn des Versuches 13,7 - 17,1 Mill./µl Blut. Ein Abfall auf 9 - 13 Mill. Erythrozyten zeichnete sich bei je 2 Tieren bis zur 5.Woche (Tier 1, 4) bzw. 11. - 18.Woche p.i. (Tier 3, 2) ab. Bei den beiden behandelten Ziegen (Tier 3, 4) stiegen die Werte bis zur 16. - 31.Woche p.i. zur Norm an. Die beiden Tiere ohne Behandlung (Tier 1, 2) blieben mit ihren Werten bis Versuchsende (333. bzw. 356.Tag) unter den Werten vor der Infektion.
Der Hämoglobingehalt lag vor der Infektion bei 11,28 - 12,5g/100 ml Blut. Die Werte fielen bis zur 6. - 10.Woche p.i. auf 7,5 - 9g ab. Die beiden therapierten Tiere (Tier 3, 4) erreichten ab der 31. - 32. Woche p.i. die Ausgangswerte. Die beiden Tiere ohne Behandlung (Tier 1, 2) blieben bis Versuchsende unter den Ausgangswerten.

3.2.3.3. Chemotherapie

Eine Behandlung je einer Ziege am 94.Tag (Tier 3) bzw. 180.Tag p.i. (Tier 4) mit 12,5 mg Berenil-Wirksubstanz/kgKGW ließ die Tiere im Woo-Test ab dem 1.Tag p.th. und im biologischen Tierversuch, ausgeführt am 197. - 222.Tag p.i., Beobachtungszeit 3 Monate, parasitenfrei werden. Die Blutwerte erholten sich innerhalb von 4 - 5 Monaten auf die Ausgangswerte bis zum 8. - 10.Monat p.i..

3.2.3.4. Serologische Untersuchungen mit dem ELISA

Die Seren von den 4 Ziegen, die mit T. evansi (K.) infiziert worden waren, zeigten ebenfalls präinfektionelle Titer bis 1 : 16, sodaß die positive Beurteilung der serologischen Reaktionen auf 1 : 32 und darüber festgesetzt wurde.
Am 15.Tag p.i. waren alle Tiere erstmals im ELISA mit Titern von 1 : 32 - 1 : 64 positiv. Die Titer erhöhten sich schrittweise bis zum 30. - 48.Tag p.i. auf Maximalwerte von 1 : 128 - 1 : 256. Der Titer eines Tieres (Tier 2) stieg zusätzlich am 77.Tag p.i. von 1 : 128 auf 1 : 512 an. Auf den erreichten Plateaus blieben die Höchsttiter stabil oder schwankten um eine Stufe nach unten. Bei 2 nicht behandelten Tieren (Tier 1, 2) fielen die Titer von 1 : 128 auf 1 : 32 (Tier 1) bzw. von 1 : 512 auf 1 : 64 (Tier 2) am 271.Tag p.i. ab und lagen um eine Stufe nach oben pendelnd über den restlichen Untersuchungszeitraum stets im unteren serologisch positiven Bereich. Eine Behandlung eines Tieres am 94.Tag p.i. (Tier 3), dessen Maximaltiter vor Therapie von 1 : 128 auf 1 : 64 abgefallen war, erbrachte eine weitere Titerreduktion bis zum 180.Tag p.i. auf einen Wert von 1 : 16. Ein Tier (Tier 4) wurde bei einem von 1 : 256 auf 1 : 16 verringerten Titer am 180.Tag p.i. therapiert; die Werte blieben bis Versuchsende (356.Tag) im präinfektionellen Bereich.
Die Antikörpertiter-Verlaufskurven der einzelnen Ziegen wurden in den Abbildungen 11 - 14 abgehandelt.

Abb.11: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 1 (T. evansi (K.)), ohne Behandlung

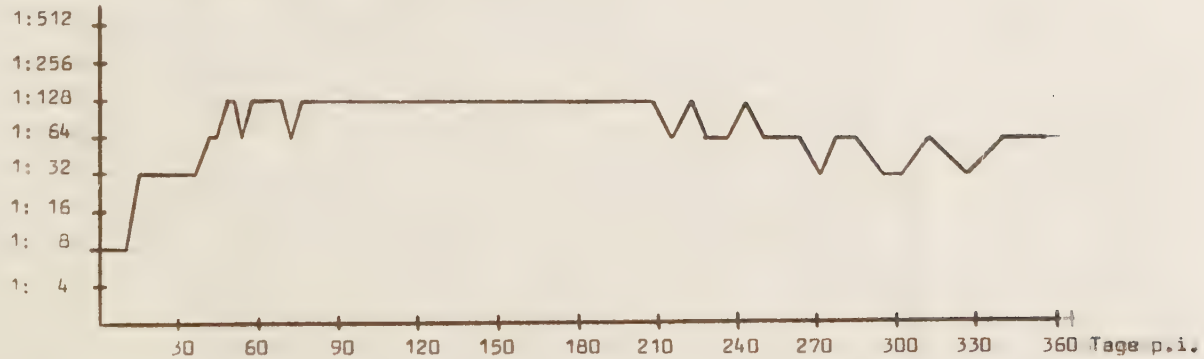


Abb.12: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 2 (T. evansi (K.)), ohne Behandlung

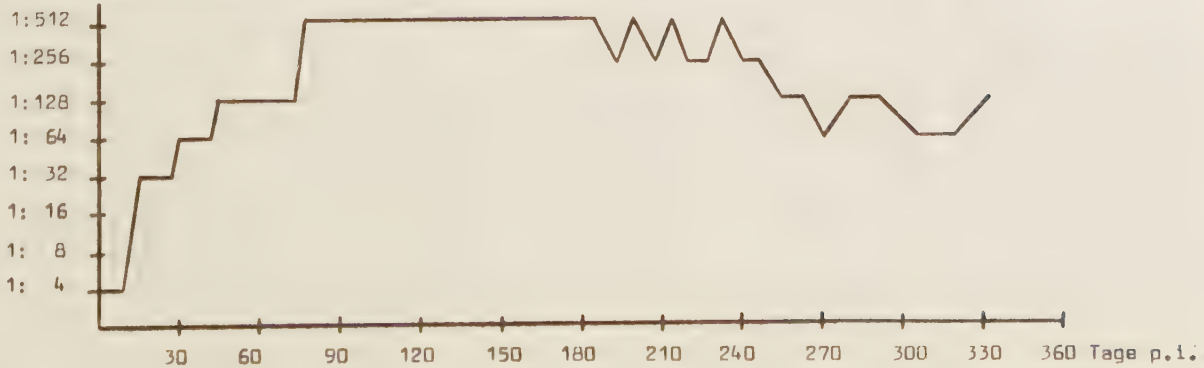


Abb.13: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 3 (T. evansi (K.)), mit Behandlung am 94.Tag p.i.

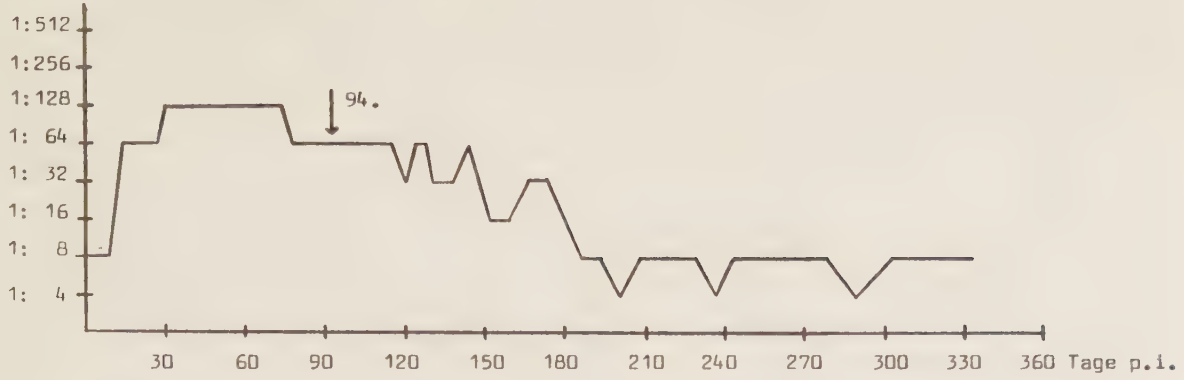


Abb.14: Antikörpertiter-Verlaufskurve bei Ziege 4 (T. evansi (K.)), mit Behandlung am 180.Tag p.i.

4. Besprechung der Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei experimentell mit Trypanosoma evansi infizierten Zwergziegen und Kaninchen mithilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zirkulierende Antigene, d.h. Parasiten-Exometaboliten mit antigenem Charakter, nachzuweisen und Antikörper-Titerverlaufskurven zu erstellen. Durch den Nachweis zirkulierender Antigene entweder vor Eintritt der Antikörperbildung oder nach einer nicht zur parasitären Heilung führenden Chemotherapie sollte eine Möglichkeit geschaffen werden, Trypanosoma evansi-Träger von Trypanosoma evansi-freien bzw. mit Erfolg chemotherapierten Tieren abzugrenzen. Neben der Serologie wurden auch Behandlungsversuche zur Erzielung einer parasitären Heilung sowie Untersuchungen zum Verlauf der Parasitämie und zur Veränderung der Blutparameter vor und nach Behandlung durchgeführt.

Nach der Infektion von Kaninchen und Ziegen mit Trypanosoma evansi konnte in allen Fällen eine Parasitämie nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Befunden von SAMADDAR und GILL (1962), MALIK, MAHMOUD (1978) und MAURO (1971), die bei entsprechenden Versuchen mit denselben Tierarten nur ausnahmsweise Parasiten feststellen konnten. Damit war es den genannten Autoren auch nicht möglich, eine präzise Präpatenzzeit für die Trypanosoma evansi-Infektion bei Kaninchen und Ziegen, die bei meinen Untersuchungen im Durchschnitt bei 2 - 3 Tagen lag, zu ermitteln. Es ist anzunehmen, daß die verschiedenen Versuchsergebnisse nicht auf ein unterschiedliches Infektionsverhalten der verwendeten Trypanosoma evansi-Stämme, sondern auf die von einander abweichende Nachweismethodik zurückzuführen sind. Es dürfte kein Zweifel bestehen, daß die von SAMADDAR und GILL (1962), MALIK, MAHMOUD (1978) und MAURO (1971) verwendete Standardnachweismethode (mikroskopischer Parasitennachweis im Nativpräparat und Blutausstrich) dem in der vorliegenden Untersuchung angewandten Anreicherungsverfahren (WOO, 1969) unterlegen ist. Was den Verlauf der Parasitämie betrifft, so verhielt er sich bei den von mir getesteten Tierarten unterschiedlich. Bei der Ziege entwickelte sich ausnahmslos ein nur sehr schwacher Parasitenbefall mit Höchstwerten von annähernd 1×10^3 Parasiten/ml Blut, der von parasitenfreien Phasen un-

terbrochen war. Bei keiner der Ziegen traten klinische Symptome oder ein Todesfall auf. Beim Kaninchen lagen die Werte der Parasitämie wesentlich höher. Es wurde ebenfalls eine phasenförmige Befallskurve festgestellt, wobei jedoch zu keinem Zeitpunkt das Blut mikroskopisch frei von Parasiten war. Auf dem Höhepunkt der Befallsintervalle (Peak) betrug die Parasitenzahl durchschnittlich 5×10^6 Trypanosomen/ml Blut. Im Gegensatz zur Ziege wurden beim Kaninchen schwere klinische Symptome beobachtet, die stets tödlich verlaufen. (DENNIG, 1977). Deshalb wurde in meinen Versuchen vor diesem Zeitpunkt eine Chemotherapie eingeleitet. Der intervallartige Verlauf der Parasitämie mit hohen Peaks wird von zahlreichen Untersuchern auf eine Veränderung der Antigenstruktur des Oberflächenantigens (CLARKSON, AWAN, 1969; WILSON, CUNNINGHAM, 1970, 1972; UILENBERG, GIRET, 1972; GRAY 1965; CAPBERN et al., 1977) bzw. dessen Absättigung durch unspezifische wirtseigene Proteine (KETTERIDGE, 1970, 1972; D'ALESANDRO, 1966, 1972; DIFFLEY, HONIGBERG, 1977, 1978; DIFFLEY, 1978; DESOWITZ, WATSON, 1953; DESOWITZ, 1954, 1963) zurückgeführt. Desweiteren soll eine extravaskuläre Lokalisation von Trypanosomen die Angriffsmöglichkeit von Immunglobulinen verhindern (ORMEROD, VENKATESAN, 1971). Durch diese Schutzmechanismen entzieht sich der Erreger der Immunabwehr des Wirtsorganismus und kann sich explosionsartig vermehren. WILSON und CUNNINGHAM (1972) zeigten bei T. congolense und BROWN und VICKERMANN (1970) bei T. brucei, daß während der Parasitämiegipfel stets Antigenvarianten erzeugt werden.

Ein schon ab der 1. - 3.Woche p.i. bei Ziegen und Kaninchen einsetzender Abfall der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehalts und des Hämatokritwerts führte bis zur 5. - 15.Woche p.i. zu einer ausgeprägten Anämie mit einer Reduktion der Blutwerte um 30%. Diese Anämie wird auch bei Infektionen mit anderen Trypanosomenarten beobachtet und auf eine Dyshämopoese (RICHARDSON, KENDALL, 1963; SRIVASTAVA et al.,1969), hämolytische Faktoren im Plasma (FIENNES, 1954; HUAN et al.,1975; JATKAR, PUROHIT, 1971; TIZARD, HOLMES, 1976; MURRAY et al., 1977),Vermehrung des Plasmavolumens (FIENNES, 1954; NAYLOR, 1971; HOLMES, 1976), erhöhte Osmofragilität der Erythrozyten (IKEDE et al., 1977), extravaskuläre Hämolyse (JENNINGS et al.,1974; MAMO, HOLMES 1975; SADUN et al.,1973; WOO, KOBAYASHI, 1975) bzw. auf eine erhöhte Lysis oder Erythrophagozytosis nach Anheftung von Antigen, Immunkomple-

xen bzw. Komplement an die Erythrozytenoberfläche (KOBAYASHI et al., 1976; TIZARD et al., 1978a; HERBERT, INGLIS, 1973; ZUCKERMANN, 1964; WOO, KOBAYASHI, 1975; MACKENZIE et al., 1978; JARVINEN, DALMASSO, 1977) zurückgeführt. Der normozytäre, normochrome Charakter der Anämie in der vorliegenden Untersuchung bei Ziege und Kaninchen entspricht den Angaben von VERMA et al. (1973, 1976) bei Büffeln und Rindern sowie von SHIEN (1971) bei Hunden. Er steht im Gegensatz zu den Beobachtungen an der Ziege mit einer mikrozytären, hyperchromen Form (SAMADDAR et al., 1962), am Kamel und an der Ratte mit einer makrozytären, normochromen Form (JATKAR, PUROHIT, 1971) und an der Ratte mit einer normozytären, hyperchromen Form (ASSOKU, 1975). Eine enge zeitliche Abhängigkeit der Blutparameter von den Parasitämiegipfeln konnte während des akuten Verlaufs der Infektion beim Kaninchen entsprechend den Untersuchungen von ASSOKU (1975) beobachtet werden. Nach Erreichen eines Parasitämiegipfels sanken die Blutwerte innerhalb von 2 - 4 Tagen ab (Tabelle 1). Teilweise erholten sie sich bis zum nächsten Parasitämieschub, um innerhalb von 2 - 4 Tagen nach dem nächsten Peak wieder abzufallen. Der Erfolg einer Chemotherapie wurde bestätigt durch eine Verbesserung der Blutwerte bis zur Norm, bei den Kaninchen innerhalb von 4 - 6 Wochen nach Therapie, bei den Ziegen bis zum 4. - 5. Monat p.th..

Über die Chemotherapie der Trypanosoma evansi-Infektion mit Berenil bei Ziegen liegen in der Literatur keine Angaben vor. Bei allen mit 12,5 mg Berenil-Wirksubstanz/kgKGW i.m. behandelten Ziegen stellte sich eine parasitäre Heilung ein. Bei Kaninchen war eine Sterilisatio magna wesentlich schwieriger zu erreichen. Berenil führte selbst in hoher Dosierung zu keiner parasitären Heilung, die erst durch Kombination mit Naganol bzw. durch Naganol allein in einer Dosierung von 20 mg/kgKGW eintrat. Dies stimmt mit den Ergebnissen von DENNIG (1977) überein, der Rückfälle bei einer Behandlung von Kaninchen mit 35 mg Berenil/kgKGW erhielt und mit LUCKINS et al. (1978), die Kaninchen mit 20 mg Naganol/kgKGW behandelten.

Ein erster Antikörpernachweis mithilfe des ELISA gelang gleichermaßen beim Kaninchen und der Ziege zwischen dem 10. und 15.Tag p.i.. Dies steht im Einklang mit den Untersuchungen von LUCKINS et al. (1978,

1979) bei mit T. evansi infizierten Kaninchen und Kamelen. Wie auch in den Untersuchungen von LUCKINS et al. (1978, 1979) fand in der vorliegenden Arbeit als Konjugat gegen Immunoglobulin G gerichtetes Antiglobulin Verwendung. Der im Gegensatz zu IgM- empfindlichen serologischen Tests (z.B. IHA) verspätete Zeitpunkt eines ersten Antikörpernachweises im ELISA beruht auf der Verwendung von Anti-Immunoglobulin G bei der Testdurchführung. Während der frischen Phase einer Trypanosomen-Infektion werden nämlich zunächst IgM-Antikörper und erst später IgG-Antikörper auf der Höhe der Parasitämie und beim Übergang der Infektion in eine latente Phase ausgebildet.
Im Verlauf der Antikörperanstiege wurden Maximaltiter von 1 : 256 - - 1 : 512 bei Infektion mit T. evansi (B.) von Ziegen zwischen dem 17. und 118.Tag p.i. und von Kaninchen am 15. - 48.Tag p.i. erreicht. Bei Infektion von Ziegen mit T. evansi (K.) lagen die Maximaltiter ab dem 30. - 77.Tag p.i. bei 1 : 128 - 1 : 512. Bei Kaninchen stellten LUCKINS et al. (1978) ebenfalls Höchstwerte am 30. - 37.Tag p.i. fest. Die Ergebnisse des ELISA gaben LUCKINS et al. (1978, 1979) in Extinktionswerten und nicht in Titerstufen an, was einen Vergleich der Untersuchungsergebnisse erschwert. Das verzögerte Erreichen der Maximalwerte in der vorliegenden Arbeit bei einigen mit T. evansi (B.) infizierten Ziegen ist als individuelle Reaktion der Immunantwort der Tiere auf die Infektion zu werten. Dies wird durch Untersuchungen von LUCKINS (1977) an Boviden belegt, wobei bei gleichartigem Infektionsmodus eine unterschiedlich schnelle Ausbildung von Maximalextinktionen auftrat. Die etwas geringeren Maximaltiter einiger mit T. evansi (K.) infizierten Ziegen sind vermutlich auf die Differenz der Antigenität der verwendeten Infektionsstämme und des humoralen Abwehrsystems des Wirtstieres zurückzuführen.
Ein Titerabfall auf präinfektionelle Werte trat nach Chemotherapie bei mit T. evansi (B.) bzw. T. evansi (K.) infizierten Ziegen vom 47. bis 133.Tag p.th. auf. Diagnostische Erregerübertragungen auf Mäuse waren negativ. Zwei mit T. evansi (K.) infizierte Ziegen (Tier 1, 2) blieben ohne Behandlung trotz eines Titerabfalls um den 200.Tag p.i. bis Versuchsende serologisch und im biologischen Tierversuch positiv. Bei zwei mit T. evansi (B.) infizierten, nicht behandelten Ziegen (Tier 1, 2) trat vermutlich Selbstheilung ein, da die Titer am 161. bzw.

272.Tag p.i. auf präinfektionelle Werte abfielen und der biologische Tierversuch keine Infektion nachwies. Dies entspricht den Beobachtungen von LINGARD (1907), wonach Rinder nach mehreren Monaten im diagnostischen Tierversuch negativ wurden. Bei mit T. evansi (8.) infizierten Kaninchen sanken die Titer nach Chemotherapie je nach Titerniveau innerhalb von 87 - 101 Tagen auf präinfektionelle Werte ab. Bei zwei Kaninchen, welche bei einem Titer von 1 : 512 behandelt wurden (Tier 4, 5), wurden erstmals 177 bzw. 184 Tage p.th. Titer von 1 : 32 erreicht. Die diagnostische Mäuseinokulation war von allen Kaninchen negativ verlaufen. Es scheint, daß die Dauer des Titerabfalls bis auf präinfektionelle Werte nach erfolgreicher Chemotherapie von der Höhe des Titers und der Parasitämie zum Behandlungszeitpunkt als auch vom Niveau der präinfektionellen Titer abhängt. LUCKINS et al. (1979) beobachteten bei Kamelen 57 Tage p.th. nur noch minimal höhere Extinktionen als vor der Infektion. Bei Kaninchen (LUCKINS et al., 1978) fielen die Extinktionswerte bis zum 30.Tag p.th. um 50% ab, erreichten aber bis Versuchsende (118.Tag p.th.) nicht die präinfektionellen Extinktionen.
In der vorliegenden Arbeit war es gegenüber LUCKINS et al. (1978, 1979) möglich, Tiere mit chronischer Infektion von geheilten Tieren mittels der Serologie zu unterscheiden. Bei Therapie von Ziegen bei Titern bis zu 1 : 512 wurden bis spätestens am 133.Tag p.th. präinfektionelle Titer erreicht; eine Therapie von Kaninchen bis zu Titern von 1 : 256 erbrachte bis zum 101.Tag p.th. präinfektionelle Werte. Der unterschiedliche Aussagewert meiner Arbeit und der Untersuchungen von LUCKINS et al. (1978, 1979) beruht auf der um 150 - 250 Tage längeren Beobachtungszeit meiner Versuche und der Abklärung der serologischen Ergebnisse durch diagnostische Mäuseinokulationen gegenüber der von LUCKINS et al. angewandten mikroskopischen Blutuntersuchung. Aufgrund meiner Ergebnisse ließe sich sagen, daß unter Feldbedingungen Tiere in monatlichen Abständen zu untersuchen sind, um durch Ermittlung eines Titerabfalls die in der Heilungsphase befindlichen Tiere von prämunen (konstante Titer) oder neuinfizierten Tieren (ansteigende Titer) unterscheiden zu können. Ergeben sich bei einmalig epidemiologischen Untersuchungen Titer knapp über dem präinfektionellen Bereich, sollte zur Untermauerung der Serologie ein biologischer

Tierversuch durchgeführt werden, um prämune, ein Erregerreservoir darstellende Tiere, auszuschließen.

Ein Nachweis zirkulierender Trypanosoma evansi-Antigene gelang mithilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) aus dem Serum von Ziegen und Kaninchen nicht. Der ELISA wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals zum Nachweis von Exoantigenen bei Trypanosomen eingesetzt, während bisher nur andere serologische Methoden benutzt wurden. Ein Grund für das Nichtgelingen eines Antigennachweises in meiner Arbeit dürfte in einer zu geringen Exoantigen-Produktion durch die verwendete Trypanosomenspezies in den genannten Versuchstieren liegen. Die bisherigen Erfolge wurden fast ausschließlich bei Infektionen von Ratten und Mäusen mit verschiedenen Trypanosomenarten erlangt (WEITZ, 1960a,b; ARAUJO et al., 1978a,b; SEED, WEINMANN, 1963). Da es sich bei diesen Nagern um die für Trypanosomen empfänglichsten Tierarten handelt mit einer Entwicklung von einer von keiner anderen Tierart erreichten Parasitämie, und da eine enge Beziehung zwischen der Höhe der Parasitämie und der Konzentration zirkulierender Antigene festgestellt wurde (GRAY, 1961; ARAUJO, 1976; ARAUJO et al., 1978b; DIFFLEY et al., 1980), ist zu vermuten, daß bei meinen Untersuchungen durch die Ausbildung einer zu geringen Parasitämie der Versuchstiere Antigen nicht nachgewiesen werden konnte. GRAY (1961) erhielt bei Infektionsversuchen mit T. vivax bei 'schwach infizierten' Ziegen und Rindern (Kontrolle anhand von Nativpräparaten und Ausstrichen) keine Reaktion in der Agargel-Diffusion, bei Ziegen mit starker Parasitämie und tödlichem Ausgang innerhalb von 3 Wochen bei einer Ziege keine, bei den übrigen Ziegen schwache Reaktionen; Ratten mit hoher Parasitämie ergaben stets Präzipitationslinien. Im Gegensatz hierzu wiesen die von mir untersuchten Ziegen im Nativpräparat nie Trypanosomen auf. ARAUJO (1976) gelang bei Mäusen kein Antigennachweis in der chronischen Phase der T. cruzi-Infektion gegenüber der akuten Infektion. Diese Untersuchungen zeigen, daß bei stärkster, tödlich verlaufender Parasitämie in anderen Tierarten als Maus und Ratte nur geringe oder keine Reaktionen auftreten und bei den empfänglichsten Tierarten während eines chronischen Verlaufs ein Exoantigen-Nachweis mißlingt. Bei Ziegen blieb die Infektion entsprechend meinen Untersuchungen latent; bei Kaninchen wurden während der Parasitämiegipfel selten

Werte von 3+ im Nativpräparat erreicht, welches einer Parasitenanzahl von 5×10^6 Trypanosomen/ml Blut entspricht. Diese Trypanosomenanzahl liegt weit unter der von DIFFLEY et al. (1980) ermittelten Zahl von 4×10^8 Parasiten/ ml Blut, ab welcher der Autor keine Exoantigene bei mit T. brucei infizierten Ratten und Mäusen mithilfe der Gel-Immunodiffusion mehr nachweisen konnte. Nach DIFFLEY et al. (1980) ist eine gewisse Sättigung an Parasiten für einen Exoantigennachweis notwendig. Da im Gegensatz zu Maus und Ratte bei Kaninchen und Ziegen ein langsamer Anstieg der Parasitenzahl erfolgt, wird bis zum Zeitpunkt der Antikörperbildung keine für einen Nachweis erforderliche Antigenkonzentration erreicht.

Nach Ausbildung der Antikörper sprechen die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen (ARAUJO, 1976; FRUIT et al., 1977; CHAVES et al., 1979) für eine Verbindung der zirkulierenden Antigene mit den Antikörpern zu Immunkomplexen. Aufgrund der Bildung von Immunkomplexen vor Erreichen einer maximalen Antigenkonzentration gelingt ein Exoantigennachweis in meiner Arbeit in der chronischen Phase der Infektion nicht, da das freizirkulierende Antigen möglicherweise durch Antikörper zum Teil bzw. gänzlich abgebunden wird. Diese Vermutungen werden durch Untersuchungen von ARAUJO (1976), FRUIT et al. (1977) und CHAVES et al. (1979) gefestigt. ARAUJO (1976) gelang kein Exoantigennachweis bei chronisch mit T. cruzi infizierten Mäusen im Gegensatz zur akuten Infektion. Ein Auftreten von Immunkomplexen ab dem 12.Tag p.i. stellten FRUIT et al. (1977) bei der Infektion mit T. gambiense beim Menschen und mit T. brucei bei der Maus fest, indem sie einen Fixierungstest für Immunkomplexe mithilfe von J^{125}- markiertem Komplement anwandten. Gleichermaßen beobachteten CHAVES et al. (1979) Immunkomplexe ab dem 10. - 15.Tag p.i. bei mit T. cruzi infizierten Mäusen in der Gel-Diffusion unter Verwendung von Komplement. CHAVES et al. (1979) spalteten zusätzlich die Immunkomplexe mit Glyzin-HCl und wiesen das in den Immunkomplexen enthaltene Antigen als Parasitenantigen in der Komplement-Gel-Diffusion nach. Für eine Ausbildung von Immunkomplexen sprechen zusätzlich die während einer Trypanosomen- Erkrankung durch Immunkomplexe hervorgerufenen pathologischen Veränderungen, wie Glomerulonephritis (NAGLE et al., 1973, 1974; MOULTON,

COLEMAN, 1974; LAMBERT, HOUBA, 1974; SADUN et al., 1973), immunologische Erythrozytenzerstörung (JARVINEN, DALMASSO, 1977; KOBAYASHI et al., 1976), Hautläsionen (TIZARD, 1978b) und Hypersensitivitätsreaktionen (MACKENZIE, BOREHAM, 1974). In meinen Versuchen konnte nach Spaltung von Immunkomplexen mittels Glyzin-HCl-Puffer kein Exoantigen im ELISA sichtbar gemacht werden. CHAVES et al. (1979) gelang dagegen bei mit T. cruzi infizierten Mäusen eine Spaltung von Immunkomplexen mit dem gleichen Puffer und ein anschließender Antigennachweis in der Gel-Diffusion. Da eine enge Abhängigkeit der Antigenkonzentration von der Parasitenanzahl besteht, ist ebenfalls eine Beziehung zwischen Antigenmenge und Anzahl der entstehenden Immunkomplexe denkbar. Es wäre demnach möglich, daß in der vorliegenden Arbeit eine Spaltung von Immunkomplexen erreicht wurde, jedoch das wenige freiwerdende Exoantigen mit der ELISA-Technik nicht erkannt wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß eine serologische Kontrolle eines Behandlungserfolges der Surra mithilfe des ELISA möglich ist. Bei parasitärer Heilung sinken die Antikörpertiter auf präinfektionelle Werte ab. Reinfizierte und prämune, ein Erregerreservoir darstellende Tiere, können anhand wiederholter serologischer Untersuchungen abgegrenzt werden, da die Antikörpertiter ihrer Seren ansteigen bzw. konstant bleiben. Werden bei einmalig epidemiologischen Untersuchungen Titer im unteren positiven Bereich erhalten, könnte ein zusätzlich zur Serologie durchgeführter biologischer Tierversuch helfen, eine Prämunität auszuschließen. Durch eine einzige serologische Untersuchung ist es bislang noch nicht möglich, zu jedem Zeitpunkt der Infektion Trypanosomenträger von trypanosomenfreien Individuen zu unterscheiden. Dieses Problem wird erst gelöst werden, wenn Exoantigene direkt nach Erregerübertragung als auch in latent infizierten Trägern eventuell mittels Anreicherungsverfahren oder hochsensitiver Tests nachgewiesen werden können.

5. Zusammenfassung

Anhand der Literatur wird ein Überblick über die Serodiagnostik der Trypanosoma evansi-Infektion und den Nachweis zirkulierender Trypanosomenantigene gegeben.

Der experimentelle Teil der Arbeit befaßt sich mit dem serologischen Verhalten von im Serum zirkulierenden T. evansi-Antikörpern und -Antigenen im Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bei experimentell infizierten Zwergziegen und Kaninchen. Daneben wurden Behandlungsversuche zur Erzielung einer parasitären Heilung sowie Untersuchungen zum Verlauf der Parasitämie und zur Veränderung der Blutparameter durchgeführt.

Nach der Infizierung konnte in allen Fällen eine Parasitämie nachgewiesen werden; die Präpatenz betrug durchschnittlich 2 - 3 Tage. Der Parasitenbefall blieb bei Ziegen mit Höchstwerten von 1×10^3 Parasiten/ ml Blut und bei Kaninchen mit 5×10^6 Parasiten/ ml Blut schwach.

Durch einen Abfall der Blutwerte (Ery, Hb, Hkt) ab der 1. - 3. Woche p.i. mit einer Reduktion um ca. 30% in der 5. - 15.Woche p.i. wurde eine Anämie vom normochromen, normozytären Typ erzeugt.

Eine Chemotherapie der Ziegen mit 12,5 mg Berenil-Wirksubstanz/kgKGW bzw. der Kaninchen mit 20 mg Naganol/kgKGW erbrachte eine parasitäre Heilung ab dem 1.Tag p.th.. Die Blutwerte stiegen bei den Kaninchen bis zur 4. - 6.Woche p.th., bei den Ziegen bis zum 4. - 5.Monat p.th. auf die Norm an.

Ein Antikörpernachweis gelang mithilfe des ELISA ab dem 10.- 15.Tag p.i. bei allen Tieren. Maximaltiter von 1 : 256 - 1 : 512 wurden bei Infektion mit T. evansi, Stamm Bali,von Ziegen zwischen dem 17.-118. Tag und von Kaninchen am 15. - 48.Tag p.i. erreicht. Bei Infektion von Ziegen mit T. evansi, Stamm Kairo,lagen die Maximaltiter ab dem 30. - 77.Tag p.i. bei 1 : 128 - 1 : 512. Nach erfolgreicher Chemotherapie sanken die Titer innerhalb von 90 - 184 Tagen auf präinfektionelle Werte von 1 : 16 bei Ziegen bzw. 1 : 32 bei Kaninchen ab.

Ein Nachweis zirkulierender T. evansi-Antigene innerhalb eines Untersuchungszeitraumes von 10 - 12 Monaten aus dem Serum experimentell infizierter Ziegen und Kaninchen erwies sich als nicht möglich mit den angewandten ELISA-Techniken des "Direkten Antigennachweises", des "Antikörper-Hemmungstestes", einer Modifizierung des "Double-Antibody-Tests"und einer eigenentwickelten Spaltungsmethode von Immunkomplexen.

HEINZMANN, D.: Studies of circulatory antigens and antibodies in the serum of Trypanosoma evansi infected rabbits and goats by means of the ELISA before and after chemotherapy

Summary

The literature was reviewed about the serodiagnostic of Trypanosoma evansi infections and evidence for the occurrence of circulatory Trypanosoma antigens was summarized.

Experimentally, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assay circulatory serum T. evansi antibodies and T. evansi antigens gained from experimentally infected dwarf goats and rabbits.

In addition different modes of treatment leading to parasitic sterilisation were tried and the course of parasitaemia and the change of blood parameters were investigated.

After infection parasitaemia was evident in all cases; the prepatent period generally amounted to 2 to 3 days. The parasite count remained low; maximal concentrations reaching 1×10^3 parasites/ml blood in goats and 5×10^6 parasites/ml blood in rabbits.

A decrease in the level of blood parameters (Ery, Hb, Hkt) beginning 1 to 3 weeks p.i. and reaching a reduction of about 30% 5 - 15 weeks p.i. resulted in a normochromic, normocytic type of anaemia.

Parasitic sterilisation was obtained from the first day p.th. by treating goats with 12,5 mg Berenil/kg body weight and rabbits with 20 mg Naganol/kg body weight. The above mentioned amount of Berenil used for chemotherapy refers to the efficacious substance. The blood parameters of the rabbits rose to the original level 4 - 6 weeks p.th., that of the goats 4 - 5 months p.th..

From the 10th to the 15th day p.i. antibodies could be demonstrated in all animals by means of ELISA. Maximum titres of 1 : 256 to 1 : 512 were reached in goats between the 17th and 118th day p.i., in rabbits between the 15th and 48th day after infection with T. evansi, strain Bali. Infection of goats with T. evansi, strain Kairo, resulted in a maximum titre of 1 : 128 to 1 : 512 between the 30th and the 77th day p.i.. Effective therapy resulted by the 90th to the 184th day p.i. in

a titre decrease to original preinfectional levels of 1 : 16 in goats and 1 : 32 in rabbits. Circulating T. evansi antigens in the serum of experimentally infected goats and rabbits could not be demonstrated within an investigation period of 10 to 12 months by means of the applied ELISA techniques of 'Direct Antigen Test', 'Antibody Inhibition Test', a modification of the 'Double Antibody Test' and a personally developed method based upon the cleavage of immuncomplexes and subsequent demonstration of antigen.

6. Literaturverzeichnis

Alsopp, B.A., A.R. Njogu, K.C. Humphryes (1971): Nature and location of Trypanosoma brucei subgroup exoantigen and its relationship to 4S antigen.
Exper. Parasit. 29, 271 - 284

Araujo,F.G. (1976): Immunology of Chagas' disease. I. Circulating antigenes in mice experimentally infected with Trypanosoma cruzi.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 18, 433 - 436

Araujo, F.G., E. Nascimento, M.J.F. Morato (1978a): Immunological properties of the circulating antigens of Trypanosoma cruzi.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 20, 259 - 260

Araujo, F.G., E. Nascimento, M.J.F. Morato (1978b): Immunization and enhancement properties of the circulating antigens of Trypanosoma cruzi.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72, 534 - 536

Assoku, R.K.G. (1975): Immunological studies of the mechanism of anaemia in experimental Trypanosoma evansi infection in rats.
Int. J. Parasit. 5, 137 - 145

Bansal, S.R., Pathak, R.C. (1971): Serological studies on Trypanosoma evansi in domestic animals.
Haryana Vet. 10, 6 - 12

Bawden, M.P. (1970): An initial characterization of ablastinogen from the rat hemoflagellate Trypanosoma lewisi.
J. Parasit. 56, 23 - 24

Bennett, S.C.J., P.A.C. Kenny (1928): Mercuric chloride as a diagnostic agent for trypanosomiasis in camels.
J. Comp. Path. Therap. 41, 341 - 353

Bennett, S.C.J. (1929): The mercuric chloride test for camel trypanosomiasis.
J. Comp. Path. Therap. 42, 118 - 126

Bennett, S.C.J. (1933): The control of camel trypanosomiasis.
J. Comp. Path. Therap. 46, 174 - 185

Bigalke, R.D. (1966): Observations on the antigens of some trypanosomes with special reference to common antigens.
Onderstepoort J. Vet. Res. 33, 277 - 286

Boehringer, E.G. (1965): La doble difusion en agar en el diagnostico del 'Mal de Caderas', (T. equinum).
Rev. Fac. Cienc. vet., La Plata, 7, 183 - 187

Bout, D., F. Santoro, Y. Carlier, A. Capron (1977): Imuno-complexos na esquistossomose. III. Caracterizacao das imunoglobulinas e dos antigenos implicados no IC.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 19, 35 - 38

Bouvier, G. (1936): Essais de formol-gélification de divers sérums animaux.
Ann. Soc. belge Med. Trop. 16, 37 - 42

Brown, R.C., K. Vickermann (1970): Immunological aspects of the in vitro transformation of Trypanosoma brucei.
J. Protozool. 17 (Suppl.), 23 - 24

Capbern, A., C. Giroud, T. Baltz, P. Mattern (1977): Trypanosoma equiperdum: Etude des variations antigéniques au cours de la trypanosomose experimentale du lapin.
Exper. Parasit. 42, 6 - 13

Chand, K., R. P. Singh (1970): A study on the reliability of the mercuric-chloride test in the diagnosis of surra amongst different species of domestic animals.
J. Res. (Ludhiana) 7, 108 - 110

Chaves, J., R.G. Ferri, T.A.E. Kliemann, J. Irulegui, B.W.T. Souza (1979): Complexos imunes circulantes na doenca de Chagas experimental. Identificao de antigenos parasitários nos complexos.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 21, 77 - 81

Clarkson, M.J., M.A.Q. Awan (1969): The immune response of sheep to Trypanosoma vivax.
Ann. Trop. Med. Parasit. 63, 515 - 527

Cunningham, M.P., K. Vickermann (1962): Antigenic analysis in the Trypanosoma brucei group using the agglutination reaction.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 56, 48 - 52

D'Alesandro, P.A. (1966): Immunological and biochemical studies of ablastin, the reproduction inhibiting antibody to Trypanosoma lewisi.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 129, 834 - 852

D'Alesandro, P.A. (1972): Trypanosoma lewisi: Production of exoantigens during infection in the rat.
Exper. Parasit. 32, 149 - 164

Dennig, H.K. (1977): Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion beim Kaninchen.
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 28, 279

Derouin, F., J. Roffi, P.B. Diallo, J.P. Dedet (1978): Intéret de Cricetomys gambianus dans l'étude de la trypanosomiase expérimentale à Trypanosoma gambiense. Méthodes de préparation massive d'antigène et de purification de l'exoantigène sérique.
Compt. Rend. Séanc. Soc. Biol. 172, 388 - 392

Desowitz, R.S., H.C.J. Watson (1953): Studies on Trypanosoma vivax. VI. The occurrence of antibodies in the sera of infected sheep and white rats, and their influence on the course of infection in white rats.
Ann. Trop. Med. Parasit. 47, 247 - 257

Desowitz, R.S. (1954): Studies on Trypanosoma vivax. X. The activity of some blood fractions infacilitating infection in white rats.
Ann. Trop. Med. Parasit. 48, 142 - 151

Desowitz, R.S. (1963): Adaption of trypanosomes to abnormal hosts.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 113, 74 - 87

Dhillon, H.S. (1953): A latent case of bovine surra at Mukteswar diagnosed by Ray's M and B 744 test.
Indian Vet. J. 29, 242 - 243

Diffley, P., B.M. Honigberg (1977): Fluorescent antibody analysis of host plasma proteins on bloodstream forms of African pathogenic trypanosomes. I. Host specificity and time of accretion on Trypanosoma congolense.
J. Parasit. 63, 599 - 606

Diffley, P., B.M. Honigberg (1978): Immunological analysis of host plasma proteins on bloodstream forms of African pathogenic trypanosomes. II. Identification and quantitation of surface-bound albumin, nonspecific IgG, and complement on Trypanosoma congolense.
J. Parasit. 64, 674 - 681

Diffley, P. (1978): Comparative immunological analysis of host plasma proteins bound to bloodstream forms of Trypanosoma brucei subspecies.
Infect. Immun. 21, 605 - 612

Diffley, P., J. E. Strickler, C.L. Patton, B.H. Waksman (1980): Detection and quantification of variant specific antigen in the plasma of rats and mice infected with Trypanosoma brucei brucei.
J. Parasit. 66, 185 - 191

Dodd, R.Y., J.A. Kobita (1978): A novel immunoadsorbent: Use for the preparation of monospecific antibodies to the Hepatitis B antigen.
J. Immunol. Meth. 20, 117 - 129

Dodin, A., H. Frometin (1962): Mise en évidence d'un antigène vaccinant dans le plasma de souris expérimentalement infectées par Trypanosoma gambiense et par Trypanosoma congolense.
Bull. Soc. Path. Exotique 55, 128 - 138

Dodin, A., H. Frometin, M. Gleye (1962): Mise in évidence d'un antigène vaccinant dans le plasma de souris expérimentalement infectées par diverses espèces de trypanosomes.
Bull. Soc. Path. Exotique 55, 291 - 299

Dusanic, D.G. (1978): Precipitin responses to infected mice to exoantigens and cellular antigens of Trypanosoma musculi.
J. Intern. Parasit. 8, 297 - 305

Dwyer, D.M. (1977): Immunochemical identification of Trypanosoma lewisi exoantigens as surface membrane constituents.
Abstracts of papers read at the 5th International congress on Protozoology, New York City, 26 June-2July 1977, Rockefeller University, New York, USA; p. 240

Dzbeński, T.H. (1975): Exoantigens of Trypanosoma cruzi in vivo.
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 25, 485 - 491

Einwald, M. (1976): Klinische und serologische Untersuchungen an künstlich mit Trypanosoma evansi infizierten Goldhamstern.
Vet. med. Diss., München

Engvall, E., P. Perlmann (1972): Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled-antiimmunoglobulin in antigen coated tubes.
J. Immunol. 109, 129 - 135

Fiennes, R.N.T.-W. (1954): Haematological studies in trypanosomiasis of cattle.
Vet. Record 66, 423 - 434

Fruit, J., F. Santoro, D. Afchain, G. Duvallet, A. Capron (1977): Les immunocomplexes circulants dans la trypanosomiase africaine humaine et expèrimentale.
Ann. Soc. belge Med. Trop. 57, 257 - 267

Gill, B.S. (1964): A procedure for the indirect haemagglutinationstest for the study of experimental Trypanosoma evansi-infections.
Ann. Trop. Med. Parasit. 58, 473 - 480

Gill, B.S. (1965a): Studies on the serological diagnosis of Trypanosoma evansi.
J. Comp. Path. Therap. 75, 175 - 183

Gill, B.S. (1965b): Properties of soluble antigen of Trypanosoma evansi.
J. gen. Microbiol. 38, 357 - 361

Gill, B.S. (1970a): Stimulation of antibodies in Trypanosoma evansi infection of rabbits and their disappearance after treatment of the infection.
Riv. Parasitol. clin.Lab. 31, 255 - 260

Gottlieb, M. (1977): A carbohydrate-containing antigen from Trypanosoma cruzi and its detection in circulation of infected mice.
J. Immunol. 119, 465 - 470

Gray, A.R. (1961): Soluble antigens of Trypanosoma vivax and other trypanosomes.
Immunol. 4, 253 - 261

Gray, A.R. (1965): Antigenic variation in clones of Trypanosoma brucei. I. Immunological relationships of the clones.
Ann. Trop. Med. Parasit. 59, 27 - 36

Herbert, W.J., M.D. INGLIS (1973): Immunization of mice against Trypanosoma brucei infection by the administration of released antigen adsorbed erythrocytes.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 67, 268

Holmes, P.H. (1976): The use of radioisotopic tracertechniques in the study of the pathogenesis of trypanosomiasis.
in: Nuclear Techniques in Animal Production and Health,p. 463 - 474; Vienna, International Atomic Energy Agency

Hornby, H.E. (1923): A note on the value of the serum-formalin reaction in the diagnosis of trypanosomiasis.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 17, 265 - 266

Huan, C.N., L. Webb, P.H. Lambert, P.A. Miescher (1975): Pathogenesis of anaemia in African trypanosomiasis: Characterization and purification of a haemolitic factor.
Schweiz. Med. Wschr. 105, 1582 - 1583

Ikede, B.O., M. Lule, R.J. Terry (1977): Anaemia in trypanosomiasis: Mechanism of erythrozyte distruction in mice infected with Trypanosoma congolense or Trypanosoma brucei.
Acta Tropica 34, 53 - 60

Jarvinen, J.A., A.P. Dalmasso (1977): Trypanosoma musculi: Immunological features of the anemia in infected mice.
Exper. Parasit. 43, 203 - 210

Jatkar, P.R. (1971): Diagnosis of surra in camels by the passive haemagglutination test.
Brit. Vet. J. 127, 283 - 288

Jatkar, P.R., M.S. Purohit (1971): Pathogenesis of anaemia in Trypanosoma evansi infection. I. Haematology.
Ind. Vet. J. 48, 239 - 244

Jennings, F.W., P.K. Murray, M. Murray, G.M. Urquardt (1974): Anaemia in trypanosomiasis: Studies in rats and mice infected with Trypanosoma brucei.
Res. vet. Sci. 16, 70 - 76

Johnson, P., R.A. Neal, D. Gall (1963): Protective effect of killed trypanosome vaccines with incorporated adjuvants.
Nature (London) 200, 83

Kelser, R.A. (1927): Transmission of surra among animals of the equine species.
Philipp. J. Sci. 34, 115 - 141

Ketteridge, D. (1970): The presence of host serum components on the surface of rodent-adapted Trypanosoma vivax.
J. Protozoology 17 (Suppl.), 24

Ketteridge, D. (1972): Trypanosoma vivax: Surface interrelationships between host and parasite.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 66, 324

Knowles, R.H. (1924): Formol-gel test as applied to camels affected with Trypanosoma soudanense.
J. Comp. Path. Therap. 37, 37 - 44

Kobayashi, A., J.R. Tizard, P.I.K. Woo (1976): Studies on the anaemia in experimental African trypanosomiasis. II. The pathogenesis of the anemia in calves infected with Trypanosoma congolense.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 25, 401 - 406

Kuppuswamy, A.R. (1941): Experiment in Trypanosoma evansi.
Indian vet. J. 18, 59 - 74

Lambert, P.H., V. Houba (1974): Immuncomplexes in parasitic disease.
in: Brent, L., J. Holborow: Progress in Immunology 5, 57 - 67.
North-Holland Publishing Company, Amsterdam

Lanham, S.M. (1966): Fractionation of the antigens of Trypanosoma brucei.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 60, 125 - 126

Lanham, S. (1968): Separation of trypanosomes from the blood of infected rats and mice by anion exchange.
Nature (London) 218, 1273 - 1274

Lanham, S.M., A.E.R. Taylor (1972): Some properties of immunogens (protective antigens) of a single variant of Trypanosoma brucei brucei.
J. gen. Microbiol. 72, 101 - 116

Lanham, S.M., J.E. Williams, D.G. Godfrey (1972): Detection of low concentration of trypanosomes in blood by columnseparation and membranefiltration.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 66, 624 - 627

Leach, T.M. (1961): Observations on the treatment of Trypanosoma evansi infection in camels.
J. Comp. Path. Therap. 71, 109 - 117

Lingard, A. (1907): Different species of Trypanosomata observed in bovines in India.
J. trop. vet. Sci. 2, 4 - 50

Long, G.W., D.G. Dusanic (1978): Trypanosoma lewisi: Effects of immunosuppression on the serological reactivities of exoantigens and cellular antigens of bloodstream parasites.
Exper. Parasit. 44, 56 - 65

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193, 265 - 275

Luckins, A.G. (1977): Detection of antibodies in trypanosomeinfected cattle by means of a microplate enzyme-linked immunosorbent assay.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 9, 53 - 62

Luckins, A.G., A.R. Gray, P. Rae (1978): Comparison of the diagnostic value of serum immunoglobulin levels, an ELISA and a FAT in experimental infections with Trypanosoma evansi in rabbits.
Ann. Trop. Med. Parasit. 72, 429 - 441

Luckins, A.G., R. Boid, P. Rae, M.M. Mahmoud, K.H. El Malik, A.R. Gray (1979): Serodiagnosis of infection with Trypanosoma evansi in camels in the Sudan.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 11, 1 - 12

MacKenzie, A.R., P. F. L. Boreham (1974): Autoimmunity in trypanosome infections. I. Tissue autoantibodies in Trypanosoma (Trypanozoon) brucei infections of the rabbit.
Immunol. 26, 1225 - 1238

MacKenzie, P.K.I., W.P. Boyt, V.W. Nesham, E. Piris (1978): The aetiology and significance of the phagocytosis of erythrocytes and leukocytes in sheep infected with Trypanosoma congolense (Broden 1904).
Res. vet. Sci. 24, 4 - 7

Malik, K.H., M.M. Mahmoud (1978): Experimental Trypanosoma congolense and Trypanosoma evansi infections: Diagnosis by the immunofluorescent antibody test.
Sudan J. Vet. Sci. Anim. Husbandry 19, 47 - 57

Mamo, E., P.H. Holmes (1975): The erythrokinetics of zebu cattle chronically infected with Trypanosoma congolense.
Res. vet. Sci. 18, 105 - 106

Mauro, F.M. (1971): Experimental infection of rabbits with Trypanosoma evansi.
Philip. J. Vet. Med. 10, 42 - 44

Miller, J.K. (1965): Varation of the soluble antigens of Trypanosoma brucei.
Immunol. 9, 521 - 528

Moulton, J.E., J.L. Coleman (1974): Pathogenesis of Trypanosoma equiperdum in deer mice.(Peromyscus maniculatus).
Am. J. Vet. Res. 35, 961 - 976

Mühlpfordt, H. (1964): Die Generationsdauer verschiedener Trypanosomenarten.
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 15, 145 - 153

Murray, M., C.N. Huan, P.H. Lambert, H. Gerber (1977): The anaemia of African trypanosomiasis. Demonstration of a haemolytic factor.
International scientific council for trypanosomiasis research and control, 15th meeting, The Gambia, 1977

Nagle, R.B., P.A. Ward, E.A. Sadun, R.E. Berkow, A.J. Johnson, R.G. Burbury, P.K. Hildebrandt (1973): Glomerulonephritis in experimental African trypanosomiasis.
Fed. Proc. 32, 827

Nagle, R.B., P.A. Ward, H.B. Lindsley, E.H. Sadun, A.J. Johnson, R.E. Berkow, P.K. Hildebrandt (1974):Experimental infections with African trypanosomes. VI. Glomerulonephritis involving the alternate pathway of complement activation.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 23, 15 - 26

Nakane, P.K., A. Kawoi (1974): Peroxidase-labeled antibody: A new methode for conjugation.
J. Histochem. Cytochem. 22, 1084 - 1091

Naylor, D.C. (1971): The haematology and histopathology of Trypanosoma congolense infection in cattle.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 3, 159 - 168

Ormerod, W.E. (1966): The trypanosome as a secretory cell.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 60, 117

Ormerod, W.E., S. Venkatesan (1971): An amastigote phase of the sleeping trypanosome.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 65, 736 - 741

Pathak, R.C., S.R. Bansal (1969): Soluble antigen of Trypanosoma evansi in blood serum of infected animals.
Curr. Sci. 23, 568 - 569

Pegram, R.G., J.M. Scott (1976): The prevalence and diagnosis of Trypanosoma evansi infection in camels in southern Ethiopia.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 8, 20 - 27

Perie, M. (1975): The sandwich immunofluorescent complement fixation test in trypanosomiasis.
Trop. Geogr. Med. 27, 443

Perie, M. (1976): A refinement of the immunofluorescent complement fixation test for Trypanosoma infections in animals. WHO, joint WHO/FAO information service an African trypanosomiasis.

Plantureux, E. (1923): La formol-gélification dans la trypanosomiase des dromadaires. Compt. Rend. Séanc. Soc. Biol. 88, 1189 - 1190

Poursines, Y., L. Pigoury (1943): Experimental infection of horses with the Syrian strain of Trypanosoma evansi. II. Serological and haematological studies. Bull. Soc. Path. Exotique 36, 244 - 256

Rafalovich, E.M. (1949): Reakcyia agglutinacii kak metod diagnostiki skrytykh form 'su-auru'. Veterinarija (Moscow) 26, 41 - 43

Randall, R., S.C. Schwartz (1936): A survey for the incidence of surra in the Philippine Islands. Vet. Bull., United States Army (Suppl.) 30, 99 - 108

Ray, H.N. (1948): Detection of latent surra in bovines. Annual report, Indian Vet. Res. Inst. Mukteswar and Izatnagar, 1947 - 1948, 42 - 42

Ray, H.N. (1949): 1. Surra (a) Detection of latent surra in bovines by allergic, complement fixation and stilbamidine (M.B.744) tests. Annual report, Indian Vet. Res. Inst. Mukteswar and Izatnagar, 1948 - 1949, 38 - 38

Ray, H.N. (1950): Use of stilbamidine in the diagnosis of latent trypanosomiasis in bovines. Sci. Cult. 16, 33 - 34

Ray, H.N., R. Bhaskaran (1953): Chemical tests in bovine surra. Indian Vet. J. 30, 236 - 237

Receveur, M. (1938): Notes sur certaines affections du cheplel des régions nord-est du Tchad. Recl. Med. Vet. exot. 11, 113 - 118

Reynolds, F.H.K., J.S. Simmons, J.H. St.John (1930): Experimental studies of treatment of surra. Philipp. J. Sci. 43, 627 - 651

Richardson, U.F., S.B. Kendall (1963): Veterinary Protozoology. Oliver & Boyd, Edinburgh

Sabanshiev, M.S. (1972): Fluorescentno-syerologicheski metod diagnostiki su-auru vyerblyudov. Veterinarija (Moscow) 5, 65 - 66

Sabanshiev, M.S. (1973): Reaktsiya fluorestsiruyushchikh antityel pri su-auru. Veterinarija (Moscow) 6, 63 - 64

Sadun, E.H., A.J. Johnson, R.B. Nagle, R.E. Duxbury (1973): Experimental infections with African trypanosomes. V. Preliminary parasitological, clinical, hematological, serological and pathological observations in Rhesus monkeys.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 22, 323 - 330

Samaddar, J., B.S. Gill (1962): Experimental infection of Trypanosoma evansi in goats.
Indian J. Microbiol. 2, 63 - 66

Samaddar, J., B.S. Gill, D.K. Sen (1962): Haematological studies in experimental Trypanosoma evansi infection in goats.
Indian J. Microbiol. 2, 67 - 70

Samaddar, J. (1965): Diagnostic value of stilbamidine isethionate in the detection of Trypanosoma evansi infection.
Proc. nat. Inst. Sci. India 31 B, 123 - 128

Schärfl, M. (1977): Klinik, Serologie und Therapie der Trypanosoma evansi-Infektion beim Goldhamster.
Vet. med. Diss., München

Schönefeld, A. (1979): Parasitologischer, klinischer und Serumtiterverlauf bei mit Trypanosoma evansi (Steel, 1885) infizierten Ponys.
Vet. med. Diss., Berlin

Schoening, H.W. (1924):Trypanosomiasis in camels. Its detection by complement fixation.
J. Infect. Dis. 34, 608 - 613

Seed, J.R. (1963): The characterization of antigens isolated from Trypanosoma rhodesiense.
J. Protozoology 10, 380 - 389

Seed, J.R., D. Weinmann (1963): Characterization of antigens isolated from Trypanosoma rhodesiense.
Nature (London) 198, 197

Siqueira, A.F., de, F. Ferriolli, J. Carvalheiro (1966): A soluble antigen present in the serum of rats infected by Trypanosoma cruzi.
Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 8, 148

Siqueira, A.F., de, F.Ferriolli, R.D. Ribeiro (1979): Early immunological aspects in rats infected by Trypanosoma cruzi. I. Soluble antigen circulation (KBR) and the modifications of serum complement from animals in successive days of the infection.
Rev. Brasil. Pesqu. Méd. Biol. 12, 75 - 79

Shien, Y.S. (1971): Studies on canine surra. I. Clinical and laboratory studies on naturally infected cases in Taiwan.
Taiwan J. Vet. Med. Anim. Husbandry 19, 18 - 24

Shien, Y.S. (1974): Diagnosis of chronic surra in ruminants by the passive haemagglutination test.
Taiwan J. Vet. Med. Anim. Husbandry 25, 41 - 46

Spackmann, W.C. (1923): Serum-aldehyde test applied to trypanosomiasis.
Brit. Med. J., Dez. 1923, 1257

Srivastava, R.V., M.N. Malhorta, P.R. Iyer (1969): Pathology of experimental Trypanosoma evansi infection in dogs.
Indian J. Anim. Sci. 39, 307 - 314

Stephen, L.E. (1966): Observations on the resistance of West African N'Dama and Zebu cattle to trypanosomiasis following challenge by wild Glossina morsitans from early age.
Ann. Trop. Med. Parasit. 60, 230 - 246

Takaynagi, T. (1970): Immunological studies on trypanosomes with special reference to the specifications of the antigens.
Japan. J. Parasit. 19, 260 - 264

Takaynagi, T.,G.L. Enriquez, H. Kambara, Y. Ohno (1973): An immunoelectronmicroscopy of the soluble antigen of Trypanosoma gambiense.
Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth. 4, 165 - 167

Tarrant, C.J., E.H. Fife, R.J. Anderson (1965): Serological characteristics and general chemical nature of the in vitro exoantigens of Trypanosoma cruzi.
J. Parasit. 51, 277 - 285

Thillet, C.J., A.C. Chandler (1957): Immunization against Trypanosoma lewisi in rats by injections of metabolic products.
Science 125, 346 - 347

Tizard, I.R., W.L. Holmes (1976): The generation of toxic activity from Trypanosoma congolense.
Experientia 32, 1533 - 1534

Tizard, I.R., W.L. Holmes, K. Nielsen (1978a): Mechanisms of the anaemia in trypanosomiasis: Studies on the role of the haemolytic fatty acids derived from Trypanosoma congolense.
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 29, 108 - 114

Tizard, I.R., K. Nielsen, J.R. Seed, J.E. Hall (1978b): Biologically active products from African trypanosomes.
Microbiol. Review 42, 661 - 681

Topacio, T., R.A. Acevedo (1938): A survey of the incidence of surra in Philippine cattle and carabaos by complement fixation test.
Philipp. J. Anim. Industry 5, 597 - 604

Uilenberg, G., M. Giret (1972): Etudes immunologiques sur les trypanosomes. I. Existence d'un type antigènique de base chez une souche de Trypanosoma congolense (Broden, 1904). Variations après transmission cyclique.
Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 25, 37 - 52

Verma, B.B., O.P. Gautam, P.D. Malik (1973): Diminazine Aceturate in the treatment of experimental Trypanosoma evansi infection in buffalo calves.
Vet. Record 93, 465 - 467

Verma, B.B., O.P. Gautam, P.D. Malik (1976): Trypanosoma evansi: Therapeutic efficacy of Diminazine Aceturate in crossbred calves, Bos taurus and Bos indicus.
Exper. Parasit. 40, 406 - 410

Verma, B.B., O.P. Gautam (1977): Serological diagnosis of experimental bovine surra (Trypanosoma evansi infection). A comparison of passive haemagglutination, gel diffusion and indirect fluorescent antibody test.
Indian Vet. J. 54, 809 - 813

Voller, A., P. Bidwell, A. Bartlett (1975): A serological study on human Trypanosoma rhodesiense infection using a microscale ELISA. Trop. Med. Parasit. 26, 247 - 251

Weitz, B. (1960a): A soluble protective antigen of Trypanosoma brucei. Nature (London) 185, 788 - 789

Weitz, B. (1960b): The properties of some antigens of Trypanosoma brucei.
J. gen. Microbiol. 23, 589 - 600

Weitz, B., F. Lee-Jones (1961): Summary of trypanosomiasis research at the Lister Institute of Preventive Medicine, Elstree.
Ann. Trop. Med. Parasit. 55, 141 - 142

Wilson, A.J., M.P. Cunningham (1970): Immunological aspects of bovine trypanosomiasis. II. Antigenic variation in a strain of Trypanosoma congolense transmitted by Glossina morsitans.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 64, 818 - 821

Wilson, A.J., M.P. Cunningham (1972): Immunological aspects of bovine trypanosomiasis. I. Immune responses of cattle to infection with Trypanosoma congolense and the antigenic variation of the infecting organisms.
Exper. Parasit. 32, 165 - 173

Wilson, M.B., P.K. Nakane (1978): Recent developments in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies.
in: W. Knapp, K. Holubar, G. Wick: Immunofluorescence and related staining techniques.
Elsevier, North-Holland, Biomedical Press

Woo, P.T.K. (1969): The haematokrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood.
Canadian J. Zool. 47, 921 - 923

Woo, P.T.K., A. Kobayashi (1975): Studies in the anaemia in experimental African trypanosomiasis. I. A preliminary communication on the mechanisms of the anaemia.
Ann. Soc. belge Med. Trop. 55, 37 - 45

Zuckerman, A. (1964): Autoimmunization and other types of indirect damage host cells as factors in certain protozoan diseases.
Exper. Parasit. 15, 138 - 183

Herrn Professor Dr. H.K. Dennig gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gern gewährte Anleitung und Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr.Dr.h.c. J. Boch möchte ich für die Möglichkeit zur Durchführung der Arbeit danken.

Herrn Dr. G. Weiland danke ich ganz herzlich, der mir beim serologischen Teil dieser Arbeit jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Frau M. Honold danke ich recht herzlich für ihre bereitwillige Hilfe bei der Durchführung der hämatologischen und parasitologischen Untersuchungen.

Ebenso bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts, die mir bei der technischen Durchführung der Arbeit behilflich waren.

Herrn M. Reimann danke ich vielmals für die mit großem Sachverstand durchgeführte letzte Durchsicht der Arbeit.

Lebenslauf

Am 10. Oktober 1954 wurde ich als viertes Kind des Tierarztes Dr. Johannes Heinzmann und seiner Ehefrau Ernestine, geborene Angerer in Geislingen/Steige geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule von 1961 bis 1963 in Donzdorf/Württ. und von 1963 bis 1967 in München trat ich 1967 in das Pestalozzi-Gymnasium in München ein und legte dort im Frühjahr 1974 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München, das ich im November 1979 mit dem Staatsexamen abschloß.

Seit Februar 1980 arbeite ich am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München an der Anfertigung meiner Dissertation.